



**Universidade de Santiago de Compostela**  
Facultade de Farmacia  
Departamento de Psiquiatría, Radioloxía e Saude Pública  
Área de Medicina Preventiva e Saude Pública

**Análisis de los efectos de la  
contaminación atmosférica sobre la  
salud mediante diseños de casos  
cruzados: desarrollo de nuevos métodos,  
comparación con los existentes y su  
aplicación en la ciudad de Vigo**

*Eduardo Carracedo Martínez*  
Santiago de Compostela 2011

ISBN 978-84-9887-638-3 (Edición digital PDF)





**D. Adolfo Figueiras Guzmán, profesor titular de Medicina Preventiva e Saúde Pública da Universidade de Santiago de Compostela.**

E

**Dña. Margarita Taracido Trunk, profesora titular de Medicina Preventiva e Saúde Pública da Universidade de Santiago de Compostela.**

INFORMAN:

Que Don Eduardo Carracedo Martínez, licenciado en farmacia, realizou baixo a súa dirección o traballo de investigación que leva por título “**Análise dos efectos da contaminación atmosférica sobre saúde mediante deseños de casos cruzados: Desenvolvemento de novos métodos, comparación cos existentes e a súa aplicación na cidade de Vigo**”.

Revisado o presente traballo quedan conformes coa su presentación, xa que reúne as condicións necesarias para ser defendido publicamente ante o tribunal correspondente que ha de xulgalo para obter o Grao Académico de Doutor en Farmacia.

E para que así conste e produza os efectos oportunos, firman o presente documento en Santiago de Compostela en xuño de 2010.

Adolfo Figueiras Guzmán

Margarita Taracido Trunk



*A mis seres queridos. Mucho del tiempo invertido en la realización de este trabajo científico les pertenecía.*



## **Agradecimientos:**

A Juan Jesús Gestal Otero, catedrático de Medicina Preventiva y Salud Pública, por permitirme llevar a cabo este estudio.

A Adolfo Figueiras Guzmán, profesor de Medicina Preventiva y Salud Pública, mi agradecimiento por ofrecerme la oportunidad de participar en este proyecto y por su dedicación en la dirección del mismo durante todos estos años.

A Margarita Taracido Trunk, profesora de Medicina Preventiva y Salud Pública, mi agradecimiento por el tiempo invertido en la dirección de este trabajo científico.

Al Fondo de Investigaciones Sanitarias por la financiación de este estudio (00/0010-05 y 99/1189).

A la Red Municipal de Vigilancia de Contaminación Atmosférica de Vigo por facilitarnos los datos de contaminantes atmosféricos, al Instituto Nacional de Meteorología por proporcionarnos datos meteorológicos, al Servicio de Epidemiología de la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia por proporcionarnos datos de enfermedades de declaración obligatoria, a la Red Española de Aerobiología en Vigo por facilitarnos datos de pólenes, y a la Central de Emergencias Médicas 061 por proporcionarnos datos de morbilidad en Vigo.

A los coautores de los artículos científicos que dan lugar a esta tesis doctoral, así como a los revisores y editores de las revistas científicas en los que se publicaron por sus valiosas aportaciones y sugerencias para mejorar la calidad de los manuscritos.

Finalmente, al Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública en su conjunto por su acogida.



A continuación se listan en orden cronológico las citas bibliográficas de la relación de artículos publicados o en proceso de publicación, originados por el trabajo de investigación que culminó en la elaboración de esta tesis doctoral:

- Figueiras A, Carracedo-Martínez E, Saez M, Taracido M. Analysis of case-crossover designs using longitudinal approaches: a simulation study. *Epidemiology*. 2005; 16: 239-46.
- Carracedo-Martínez E, Sanchez C, Taracido M, Saez M, Jato V, Figueiras A. Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain. *Allergy*. 2008; 63: 347-53.
- Carracedo-Martínez E, Taracido M, Tobias A, Saez M, Figueiras A. Case-Crossover Analysis of Air Pollution Health Effects: a Systematic Review of Methodology and Application. *Environ Health Perspect*. 2010 (en prensa).



## Abreviaturas:

- ARIMA: *autoregressive integrated moving average*.
- CCO: de casos cruzados o *case-crossover*.
- CIE-9: 9ª revisión de la clasificación internacional de enfermedades.
- CO: monóxido de carbono.
- EE : error estándar.
- EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- EPT: estratificado por tiempo o *time-stratified*
- GAM : modelos aditivos generalizados.
- GLMM: modelos lineales generalizados mixtos.
- IC95%: intervalo de confianza del 95%.
- NO: monóxido de nitrógeno
- NO<sub>2</sub>: dióxido de nitrógeno.
- NOx: óxidos de nitrógeno totales.
- O<sub>3</sub>: ozono.
- OR : *odds ratio*.
- Ox: oxidantes totales.
- PM<sub>2.5</sub>: partículas atmosféricas de menos de 2.5 μm de diámetro.
- PM<sub>7</sub>: partículas atmosféricas de menos de 7 μm de diámetro.
- PM<sub>10</sub>: partículas atmosféricas menores de 10 μm de diámetro.
- RLC : regresión logística condicional.
- SO<sub>2</sub>: dióxido de azufre.



## INDICE

<b>1. Introducción .....</b>	<b>15</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>17</b>
2.1. Objetivo general .....	17
2.2. Objetivos específicos .....	17
2.2.1. Realizar una revisión sobre los diseños CCO .....	17
2.2.2. Comparar los diferentes diseños CCO entre sí y con diseños de series temporales .....	17
2.2.3. Aplicar los diseños CCO a datos reales de contaminación atmosférica, polen y salud en la ciudad de Vigo .....	18
<b>3. Método .....</b>	<b>19</b>
3.1- Metodología de la revisión bibliográfica .....	19
3.2- Metodología del estudio de simulación.....	20
3.3- Metodología de la aplicación a los datos de Vigo .....	26
<b>4-Resultados.....</b>	<b>31</b>
4.1- Resultados de la revisión .....	31
4.2. Resultados de la simulación .....	47
4.3 Resultados de la aplicación a los datos de Vigo.....	55
<b>5-Discusión .....</b>	<b>63</b>
5.1- Discusión de la revisión bibliográfica.....	63
5.2. Discusión de simulación.....	68
5.3. Discusión de la aplicación a Vigo .....	71
<b>6-Conclusiones.....</b>	<b>77</b>
6.1. De la revisión de diseños CCO .....	77
6.2. De la comparación de los diferentes diseños CCO entre sí y con diseños de series temporales .....	77
6.3. De la aplicación de diseños CCO a datos reales de contaminación atmosférica, polen y salud en la ciudad de Vigo .....	78

<b>7-Anexo: Artículos publicados .....</b>	<b>79</b>
7.1. Environmental Health Perspectives 2010; doi: 10.1289/ehp.0901485.....	81
7.2. Epidemiology 2005;16:239-46.....	131
7.3. Allergy 2008; 63: 347–53.....	141
<b>8-Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>151</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

Los efectos de la contaminación atmosférica sobre la salud han sido objeto de un importante número de estudios desde la segunda mitad del siglo XX, especialmente a partir de una serie de episodios ocurridos en los países industrializados, entre los que destaca el de Londres en el año 1952<sup>1</sup>. Estas situaciones excepcionales se tradujeron en un aumento de la mortalidad y la morbilidad que dejaban pocas dudas acerca de que los niveles altos de contaminación atmosférica se asociaban causalmente con un aumento de muertes prematuras, ya que esta asociación resultaba obvia con una simple representación gráfica o comparando tasas de mortalidad de los mismos periodos de años anteriores<sup>2</sup>. Esto llevó a la adopción de políticas de control de la contaminación, sobre todo en Europa Occidental y Estados Unidos, que han conducido a una importante reducción de los niveles de contaminación atmosférica, por lo que, para evaluar sus efectos sobre la salud, se necesitan series temporales más largas; para ello, en la década de los setenta, se empezaron a aplicar modelos de regresión dinámica, que básicamente consisten en un modelo de regresión en el que la relación entre la variable dependiente y las explicativas no tiene porqué producirse simultáneamente, sino que se permite que esa relación se distribuya en el tiempo. Por otra parte, la autocorrelación residual es controlada especificando el error mediante modelos ARIMA (*autoregressive integrated moving average*). El problema de este tipo de modelos es que asumen que la variable dependiente se distribuye de forma normal, una distribución muy poco frecuente en las variables respuesta de número de eventos de morbimortalidad<sup>3</sup>.

A principios de la década de 1990, para estudiar la relación entre contaminación atmosférica y salud, se empezaron a

usar modelos de series temporales con regresión de Poisson. Inicialmente, estos modelos utilizaban funciones paramétricas, trigonométricas y lineales para captar el efecto de potenciales variables de confusión no observadas que producían tendencia y estacionalidad no explicadas. Posteriormente, estas funciones paramétricas de la tendencia han sido sustituidas por funciones no paramétricas suaves (*smoothing splines o loess*) que permiten mayor grado de flexibilidad. Sin embargo, estos modelos no están exentos de limitaciones, concretamente: la definición de los grados de libertad de la función suave<sup>4,6</sup>, los problemas de concurvidad<sup>7</sup> y la sobredispersión residual<sup>8</sup>, que pueden producir estimaciones sesgadas de los efectos de las variables de exposición. Todo ello da como resultado que las conclusiones de un estudio puedan depender del modelo seleccionado<sup>7,9</sup>.

En los últimos años se observa un gran interés por la aplicación de los diseños de casos cruzados, también conocidos como *case-crossover* (CCO), para analizar la relación entre contaminación y salud<sup>10-14</sup>. Los diseños CCO fueron propuestos por Maclure<sup>15</sup> para estudiar los efectos de exposiciones breves sobre eventos agudos. En estos diseños solo se muestrean los casos, y la estimación del riesgo se basa en la comparación de las exposiciones intra sujeto en el momento del efecto (momento “caso”) con exposiciones previas al efecto (momento “control”). Estos diseños tienen varias ventajas: una es que no es necesario muestrear sujetos controles, lo que reduce los costes del estudio y elimina las fuentes de sesgos provenientes de una mala selección de controles. Otra ventaja es que al realizar comparaciones intra sujetos, todos los posibles confusores (medidos y no) que no se modifiquen entre el periodo control y el periodo caso son controlados de forma automática por diseño, ya que permanecen constantes para cada sujeto<sup>15-17</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1) Objetivo general**

Desarrollar nuevos métodos de diseño y análisis de estudios CCO, compararlos con los métodos existentes, y aplicar estos métodos a datos reales de la ciudad de Vigo para estudiar la relación de la contaminación y el polen con la morbilidad.

### **2.2) Objetivos específicos**

#### **2.2.1) Realizar una revisión sobre los diseños CCO**

1. Realizar una revisión sistemática sobre los aspectos metodológicos de los diseños CCO que se podrían usar para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud
2. Realizar una revisión sistemática sobre los tipos de diseños CCO que se aplican en la práctica al estudio de la relación a corto plazo entre la contaminación atmosférica y la salud.

#### **2.2.2) Comparar los diferentes diseños CCO entre sí y con diseños de series temporales**

1. Desarrollar nuevos métodos de análisis de diseños CCO basados en considerar a los estudios CCO como diseños longitudinales.
2. Comparar los resultados obtenidos en diseños CCO analizados con técnicas longitudinales o de supervivencia con los diseños CCO existentes

3. Comparar los resultados obtenidos en diseños CCO con los obtenidos aplicando diseños de series temporales analizados con regresión de Poisson.
4. Comprobar el efecto que tiene la presencia o ausencia de autocorrelación sobre los diseños CCO y los de series temporales.
5. Valorar si el comportamiento de los distintos métodos CCO varía al cambiar la fuerza de la asociación entre el contaminante y la morbilidad

**2.2.3) Aplicar los diseños CCO a datos reales de contaminación atmosférica, polen y salud en la ciudad de Vigo**

1. Estudiar el efecto del polen y de la contaminación atmosférica sobre la morbilidad respiratoria y cardiovascular.
2. Estudiar la posible interacción entre la contaminación atmosférica y los niveles polínicos en su efecto sobre la morbilidad respiratoria y cardiovascular

## **3. MÉTODO**

### **3.1- Metodología de la revisión bibliográfica**

La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en enero de 2009 sobre las bases de datos MEDLINE y EMBASE, utilizando las palabras clave *case-crossover\** y *pollution\**. Como marco temporal se solicitaron los últimos 20 años. Del total de artículos obtenidos, se hizo una selección en función del idioma utilizado y del tema tratado en el título y/o en el resumen. De esta forma, se eliminaron todos los que no estaban escritos en inglés o castellano y los que no trataban sobre el tema objeto de estudio. Todos los artículos seleccionados fueron leídos. A continuación se seleccionaron artículos que aparecían referenciados en alguno de los obtenidos por el método anterior.

Los artículos recuperados se clasificaron en dos grandes grupos: (1) Artículos de metodología, en los que se describen nuevos diseños CCO o se comparan los existentes, generalmente mediante estudios de simulación y (2) artículos de aplicación, en los que se aplica algún diseño CCO para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud.

Los artículos de metodología, a su vez, se clasificaron en aquéllos que realizan estudios de simulación comparando diseños CCO entre ellos o con otros diseños, como las series temporales de Poisson, y aquellos que describen aspectos teóricos sobre el diseño CCO.

De los artículos de aplicación se obtuvieron los siguientes datos, para compararlos entre ellos: Autor, zona de realización, año, variable/s dependiente/s, variable/s independiente/s, tipo de diseño CCO: unidireccional, simétrico, semisimétrico o *time-stratified* (estratificado por tiempo (EPT)). También

se evaluó la modelización de los términos de interacción entre contaminantes y características individuales de los sujetos, para registrar si los artículos han analizado la modificación de efecto o no. No consideramos como tales análisis de modificación de efecto las interacciones de contaminantes entre ellos, con polen o variables meteorológicas, solo las variables individuales de los sujetos. Tampoco se consideró como tales el análisis estratificado en el que se elaboran modelos distintos para cada uno de los subgrupos y no se incluye un término de interacción en un modelo global.

### 3.2- Metodología del estudio de simulación

#### *Diseño*

El marco de la simulación parte de un escenario utilizado en estudios anteriores (Batenson et al<sup>17</sup> y Navidi et al<sup>18</sup>) para garantizar un mejor grado de comparación con estudios previos. Se ha construido una serie de 3 años (1.096 días) en la que el número de eventos por día seguía una distribución de Poisson, según el siguiente modelo:

$$Y_t \sim \text{Poisson}(\mu_t)$$

$$\log(\mu_t) = \alpha + \beta_1 PM_{10t} + \beta_2 trend \quad [1]$$

Donde  $Y_t$  denota el número de eventos, que puede seguir una media 2 ó 22,  $\beta_1$  denota el logaritmo del riesgo relativo de  $Y$  asociado con incrementos de  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de partículas de menos de  $10 \mu\text{m}$  de diámetro ( $PM_{10}$ ). El  $\beta_1$ , al igual que otros estudios<sup>18</sup>, lo hemos fijado en 0,001, aunque también se evaluaron otras posibilidades con valores de  $\beta_1$  desde 0 hasta 0,005. La serie de  $PM_{10}$  es real y proviene de los datos de la

ciudad de Barcelona de los años 1995 a 1997. En la expresión [1] *trend* es una variable de confusión no observada que tiene un componente estacionario y de tendencia, que ya fue utilizada en otros estudios de simulación<sup>17, 18</sup>, y que tiene la siguiente formula:

$$trend=(1+day/1096)\cdot[1+0,6\cdot\cos(2\pi(day/365))].$$

En [1] el coeficiente  $\beta_2$  toma valor 0,1 ó 0 respectivamente, según se establezcan escenarios con o sin confusión por variables no observadas. Para valorar el efecto de la autocorrelación de  $PM_{10}$  sobre las estimaciones realizadas se creó una nueva serie temporal sin autocorrelación. Para ello la serie original de  $PM_{10}$  fue permutada (reasignación al azar de los datos existentes) a partir de la serie de datos original.

A partir de la serie temporal generada desde la expresión [1], se originaron los datos usando diferentes estructuras. Primero utilizamos un diseño CCO simétrico con 2 días control, uno 7 días antes y otro 7 días después del evento<sup>17</sup>, eliminando los primeros y últimos 7 días de la serie para evitar el sesgo de selección<sup>17</sup>.

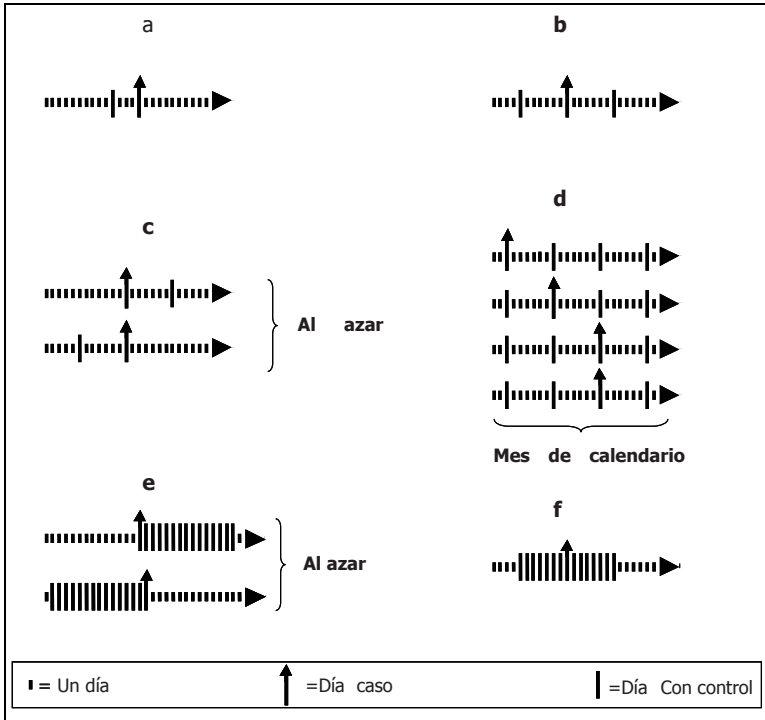
En segundo lugar utilizamos un diseño CCO semisimétrico<sup>18</sup>, en el que un solo día de control fue escogido de modo aleatorio de entre 7 días antes o después del evento.

Cuando se aplicó la regresión logística condicional a este diseño, se realizó una ponderación para evitar la influencia que se ejerce por los sujetos cerca del comienzo o final del período de observación y que resulta en que solo se observe uno de los dos posibles periodos de control<sup>18</sup>. En el diseño semisimétrico, para cada caso se elige un estrato control, con igual probabilidad, antes o después del periodo del evento. Este diseño requiere utilizar una función de verosimilitud alterada para conseguir una regresión logística ponderada,<sup>18</sup> pero el procedimiento es difícil de implementar con software estándar. Por

ello, nosotros hemos creado el efecto de la ponderación mediante muestreo, para así poder utilizar regresión logística condicional (RLC) estándar: si en un estrato un caso tiene una ponderación de 0,5, se añade un segundo control en el mismo día que ocurrió el caso; y si a un control le corresponde una ponderación de 0,5 en un determinado estrato, se añade un segundo caso en el mismo día en que ocurrió el primer caso.

Tercero, se aplica un diseño CCO EPT<sup>14, 15</sup>. Para ello se consideraron los meses de calendario como estratos, y para cada día caso se consideraron como controles todos aquellos días del mismo estrato –mes– cuyo día de la semana era el mismo que el del día caso; por ejemplo, si el día caso es el sábado 9 de diciembre de 1995, los días controles serán los demás sábados de ese mes.

Cuarto, se usa un diseño CCO fullsimétrico en el que los 7 días antes y 7 días después del evento fueron elegidos como período de control (ver figura 1). Finalmente, se examinó un diseño fullsemisimétrico en el que se eligió al azar el control de un período de 14 días, ya sea antes o después del evento. Se utilizó un período de control de 14 días a fin de que el poder estadístico fuera comparable al del diseño CCO fullsimétrico.



**Figura 1.** Diagramas mostrando los diferentes diseños *case-crossover* (CCO). Figura 1a: CCO unidireccional, Figura 1b: CCO simétrico; Figura 1c: CCO semisimétrico; Figura 1d: CCO *time-stratified*; figura 1e: CCO fullsemisimétrico; figura 1f: CCO fullsimétrico

### *Análisis de los datos*

Los datos fueron analizados utilizando diversos métodos. En primer lugar se analizaron como un estudio ecológico de series temporales aplicando modelos aditivos generalizados (GAM) con respuesta de Poisson; se utilizaron como suavizadores funciones no paramétricas suaves tipo *smoothing splines* con 7 grados de libertad por año<sup>7</sup>. Para la estimación del modelo, los criterios de convergencia fueron modificados según

lo propuesto por Dominici et al<sup>7</sup> y los errores estándar (EE) fueron calculados usando la función *gam.exact*<sup>19</sup>.

Los datos transformados en estructura CCO se analizaron como estudios de casos y controles apareados, utilizando regresión logística condicional exacta<sup>20</sup> generalizada a más de un periodo control, sin ponderación. Los datos también fueron analizados siguiendo un modelo de riesgos proporcionales, con posibilidad de eventos recurrentes y con variables explicativas dependientes del tiempo. Para ello se utilizó la aproximación de Andersen-Gill a la regresión de riesgos proporcionales<sup>21-23</sup>. Esta aproximación considera a cada observación dentro de cada individuo como una unidad de análisis independiente, pero condicionada por variables explicativas. En estas condiciones no existe garantía de la eficiencia de las estimaciones. Por ello, nosotros calculamos de forma robusta los EE mediante el agrupamiento de estimadores *jackknife*<sup>23,24</sup>.

También se aplicaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM)<sup>25-27</sup>, que son una extensión de los modelos lineales generalizados<sup>28</sup>, para permitir fuentes adicionales de variabilidad debida a efectos aleatorios no observables. Los GLMM describen la relación entre una variable respuesta y covariables en datos que están agrupados por uno o más factores (en estudios CCO las agrupaciones serían los individuos). Por ello, son muy útiles para analizar datos longitudinales, medidas repetidas, o datos multinivel. Los GLMM se estiman utilizando el método de pseudo-verosimilitud penalizada<sup>25</sup>. Aunque los estimadores de los parámetros son consistentes y eficientes<sup>26</sup>, la estimación de la varianza de los efectos fijos puede estar ligeramente sesgada<sup>27</sup>.

Se elaboró un modelo GLMM de respuesta binaria en el que se incluyeron como efectos fijos el término independiente, la exposición y la tendencia individual, y como efectos aleatorios el término independiente. Se define tendencia individual como el tiempo calendario de seguimiento de cada individuo:

toma el valor 1 para el primer día de seguimiento para cada individuo y así sucesivamente hasta 15. En los modelos GLMM, incluir el término independiente como efecto aleatorio permite controlar la heterogeneidad inicial entre sujetos y, al aplicarlo a un diseño CCO sobre los efectos agudos de exposiciones ambientales, podría permitir controlar la tendencia y la estacionalidad. Se ha incluido la tendencia individual como efecto fijo con el fin de eliminar la posible confusión por la tendencia de la exposición.

Usando el paquete estadístico S-Plus 6.0 (Insightful, Seattle, WA), se generaron y analizaron 1.000 réplicas para cada uno de los escenarios. Con el fin de que los resultados de los distintos escenarios fuesen comparables, se utilizó el mismo conjunto de semillas de aleatorización (que consistía en el número de la réplica, es decir de 1 a 1.000) en todos los escenarios. La función `glmmPQL` proviene de la librería MASS de Venables y Ripley<sup>29</sup> en su cuarta edición.

### *Expresión de los resultados*

Para cada una de las simulaciones se calculó: (1) El porcentaje de sesgo medio respecto al verdadero valor del coeficiente  $(\hat{\beta} - \beta) \cdot 100 / \beta$ . (2) La desviación estándar de los coeficientes, que nos permite aproximarnos a la dispersión y a la inestabilidad de los estimadores de  $\hat{\beta}$ . (3) El porcentaje de cobertura, que consiste en calcular el porcentaje de las réplicas que incluyen dentro de su intervalo de confianza del 95% (IC95%) el verdadero valor del coeficiente. Esta es una medida complementaria del sesgo, ya que aunque el sesgo medio sea bajo, si el cálculo de los coeficientes es muy impreciso (gran dispersión), el porcentaje de cobertura puede ser pequeño. Además, el porcentaje de cobertura da idea de si los EE de los coeficientes están bien calculados. Obviamente, el porcentaje de cobertura debe de ser igual o superior al 95%. (4) Porcentaje de réplicas que rechazan la hipótesis nula. Consideramos necesario complementar la medida de la cobertura con un indica-

dor del poder estadístico, ya que un porcentaje de cobertura muy elevado puede obtenerse a partir de unos EE sobreestimados que den como resultado IC95% amplios y, como consecuencia, poco poder estadístico. A igualdad de cobertura, el mejor modelo será aquel que tenga mayor poder estadístico.

### **3.3- Metodología de la aplicación a los datos de Vigo**

#### **Diseño y emplazamiento**

Se ha utilizado un diseño CCO bidireccional simétrico<sup>17</sup>. En este tipo de diseños solo se muestrean los casos y la estimación del riesgo se basa en la comparación de las exposiciones intrasujeto en el momento del efecto (periodo “caso”) con las exposiciones en varios momentos en los que el efecto no ocurre (periodo “control”).

Este diseño tiene varias ventajas respecto al método de Poisson. En primer lugar, no es necesario muestrear sujetos controles y en segundo lugar, al realizar comparaciones intrasujeto, todos los posibles confusores (medidos y no medidos) que no se modifiquen entre el periodo control y el periodo caso son controlados de forma automática por diseño, ya que permanecen constantes para cada sujeto<sup>30</sup>. No obstante, para que las estimaciones no estén sesgadas por la tendencia y la estacionalidad, es necesario muestrear periodos control antes y después del efecto<sup>30</sup>. En nuestro trabajo se ha utilizado un diseño CCO bidireccional simétrico con 2 días control, uno 7 días antes y otro 7 días después del evento<sup>30</sup>; se ha escogido este periodo porque: (1) es lo suficientemente pequeño como para minimizar el sesgo de selección, (2) coincide con el patrón semanal del efecto, lo que minimiza el sesgo de confusión, y (3) es lo suficientemente grande como para que no exista autocorrelación<sup>30</sup>.

El ámbito geográfico es el municipio de Vigo (España), situado a orillas del Océano Atlántico, con un clima templado que varía poco a lo largo de las estaciones y con un importante sector industrial. La población media es de unos 300.000 habitantes y su parque automovilístico alrededor de 130.000 vehículos.

La pirámide de población de Vigo presenta forma de pagoda, con una moda en el rango de edad de 25 a 30 años. Del total de población de la ciudad, el 13,16% es mayor de 65 años y el 52,46% es de sexo femenino. En orden descendiente de importancia, las principales razones de admisiones hospitalarias en el área de la ciudad, así como en la mayoría del Noroeste de España son traumatismos, enfermedades gastrointestinales, circulatorias y respiratorias.

Se analizaron los datos relativos a los años 1996 a 1999 (este era el periodo para el cual estaban disponibles los datos de contaminación atmosférica).

### **Fuentes de datos**

Los datos de contaminación atmosférica los facilitó la Red Municipal de Vigilancia de la Contaminación Atmosférica de Vigo, que dispone de varios medidores semiautomáticos a lo largo de la ciudad. Se estudiaron los valores medios de 24 horas de partículas, medidas como humos negros, y de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>).

Los humos negros fueron medidos mediante el método normalizado, usando filtro Whatman de papel n°1, lo cual principalmente captura partículas de un diámetro aerodinámico entre 4 y 5 µm. El dióxido de azufre fue medido usando el método de la Thorina. La exposición diaria de la población fue estimada usando la media de las lecturas hechas en las ocho estaciones manuales, de acuerdo con la metodología empleada en el proyecto EMECAM<sup>31</sup>. Se incluyeron los valores de las estaciones que registraron un porcentaje de datos válidos en

más del 75% de los días a lo largo del periodo de estudio. Los valores perdidos de las estaciones incluidas se calcularon con la ayuda de modelos de regresión, usando las restante estaciones de monitorización como variables explicativas, siempre que existiese un mínimo de tres estaciones válidas por contaminante.

Los datos meteorológicos se obtuvieron del Instituto Nacional de Meteorología; se estudiaron las variables temperatura, presión atmosférica y humedad relativa del aire. El número de casos semanales de gripe procede de las notificaciones realizadas al sistema de registro de Enfermedades de Declaración Obligatoria y los proporcionó el Servicio de Epidemiología de la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia. Se dividió por siete el número semanal de casos para obtener una aproximación de los casos diarios. Los niveles de polen fueron facilitados por los responsables de la Red Española de Aerobiología en Vigo. Se utilizaron los recuentos diarios de los pólenes alergénicos pertenecientes a las familias Asteraceae, Betulaceae (alnus, betula, corylus), Cupresaceae, Chenopodiaceae, Ericaceae, Fagaceae (castanea, quercus), Myrtaceae, Oleaceae (fraxinus, olea), Pinaceae, Plantaginaceae, Platanaceae, Poaceae, Polygonaceae, Salicaceae, Urticaceae y también se consideraron los recuentos de las gramíneas totales y polen total.

Los datos de morbilidad fueron obtenidos de los registros de la Central de Emergencias Médicas 061, como organismo coordinador de todas las urgencias médicas a través de su servicio telefónico. En dicha Central, el personal médico encargado de regular la demanda telefónica codifica todas las llamadas recibidas de acuerdo con la 9ª Revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-9). El personal médico debe superar un entrenamiento previo y controles de calidad periódicos para asegurar la fiabilidad de la base de datos

## Analisis de datos

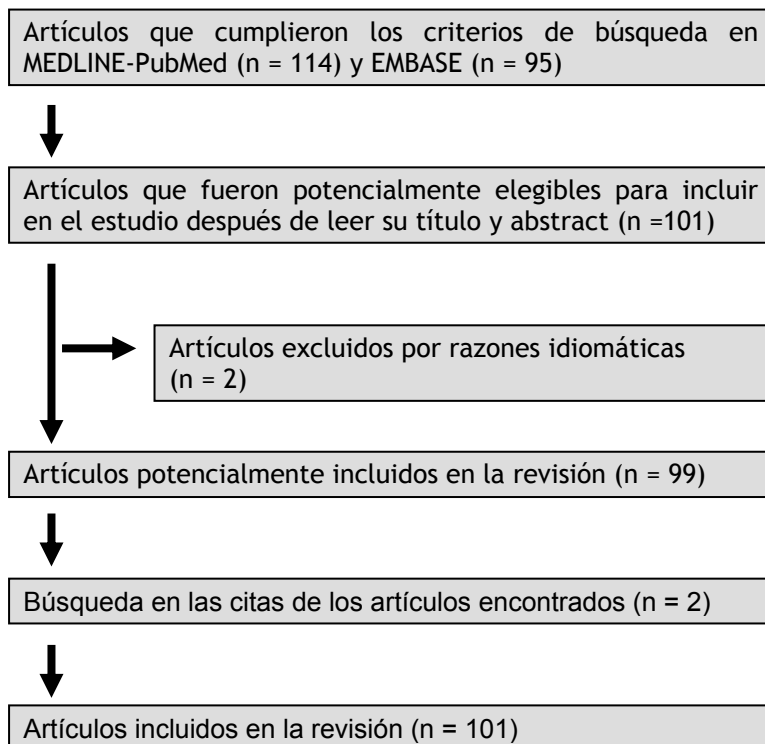
Para el análisis estadístico se aplicaron modelos de regresión logística condicional. Se construyó el modelo basal con las siguientes variables, introducidas en el orden en que se mencionan: temperatura, humedad y presión atmosférica, todas ellas en los promedios para el mismo día, día previo (promedio 01) y para los días 2 y 3 previos (promedio 23), así como la gripe y una variable binaria que indica si es día festivo. Se eligió como modelo basal aquella combinación de las variables anteriores que minimizó el AIC (akaike information criterion)<sup>32</sup>. Al modelo basal se le añadieron los distintos contaminantes o pólenes para valorar el efecto unicontaminante o unipolen. En los modelos multicontaminante o múltipolen solo se incluyeron aquellas variables que hubieran obtenido un valor  $p$  de al menos, 0,2 en el modelo unicontaminante o unipolen. Los estimadores para cada contaminante, así como para cada polen, se calcularon para el mismo día y para una exposición de hasta 3 días antes, así como los promedios 01 y 23. Los resultados se expresan en *odds ratios* (OR) con sus IC95%.



## 4-RESULTADOS

### 4.1-Resultados de la revisión

En la figura 2 se esquematizan los resultados obtenidos en la búsqueda bibliográfica.



**Figura 2.** Esquema general del estudio de revisión

Del total de 101 artículos recuperados como resultado de la búsqueda bibliográfica, 24 tratan sobre aspectos meto-

dológicos del diseño CCO <sup>15-18, 30, 33-51</sup> y el resto aplican diseños CCO para estudiar la relación entre distintos contaminantes atmosféricos y diferentes variables de resultados sobre la salud humana <sup>52-128</sup>.

### **Aspectos metodológicos de los diseños CCO**

De los 24 artículos sobre diseño CCO, en 9 se realizan estudios de simulación <sup>16-18, 30, 41, 44, 47-49</sup> consistentes en aplicar el método estadístico en múltiples réplicas a unos datos de contaminantes y variable evento con una asociación conocida, para observar el porcentaje de sesgo, poder estadístico o/y otros indicadores de comportamiento, mientras que un artículo compara los estimadores obtenidos por distintos métodos aplicados a datos reales<sup>36</sup>. El resto de los artículos metodológicos (14) solo analiza aspectos teóricos del diseño CCO, sin realizar simulaciones o comparaciones.

De la revisión de los aspectos metodológicos se observa una evolución en los diseños CCO bidireccionales, con distinta selección de los periodos control (ver tabla 1).

**Tabla 1.** Comparativa de los principales diseños Case-crossover (CCO)

Autor (año de publicación)	Denominación	Selección controles	Ventajas	Sesgo cuando...
Maclure (1991)	CCO unidireccional	Un momento control previo al efecto	Todos los posibles factores de confusión que no son modificados entre los periodos control y efecto son automáticamente controlados por diseño.	Tendencias a largo plazo o corto plazo (estacionalidad)
Navidi (1998)	CCO bidireccional <i>full stratum</i>	Para cada caso se toman como controles todos los días de la serie menos el del evento	Controla las tendencias a largo plazo	Tendencias a largo plazo (solo las controla parcialmente) o estacionalidad
Batenson y Schwartz (1999)	CCO bidireccional simétrico	Dos a igual distancia del evento	Control adecuado de las tendencias a largo plazo y control de la estacionalidad	
Navidi y weindhal (2002)	CCO bidireccional semi-simétrico	Uno elegido al azar entre los dos del CCO bidireccional simétrico	Control adecuado de tendencias a largo plazo y de la estacionalidad	
Lumley y levy (2000)	CCO bidireccional <i>time-stratified</i>	Uno (o varios) dentro del mismo estrato temporal del que se produjo el evento. Por ejemplo, si se establece como estrato temporal el mes, y el evento ocurre un lunes, se compararían con todos los lunes de ese mismo mes.	Control adecuado de las tendencias a largo plazo y estacionalidad	

Los principales diseños CCO bidireccionales, en orden cronológico de aparición, son los siguientes: CCO *full stratum*, en el que se toman como controles todos los días de la serie menos el del evento, siendo éste diseño el propuesto inicialmente por Navidi<sup>16</sup>. CCO simétrico, que fue propuesto por Batenson y Schwartz en el año 1999<sup>17</sup>, y que consiste en tomar como control 2 días de la serie, uno anterior y otro posterior al evento y con igual separación respecto al mismo. *Random matched pair*, consistente en coger cualquier día de la serie al azar antes o después del evento, que fue propuesto por Bateson y

Schwartz en 1999<sup>17</sup>. CCO EPT, consistente en tomar como control un día (o varios) dentro del mismo estrato temporal del que se produjo el evento. Por ejemplo, si se establece como estrato temporal el mes, y el evento ocurre un lunes, se compararía con todos los lunes de ese mismo mes. Fue propuesto por Lumley y Levy en el año 2000<sup>48</sup>. CCO semisimétrico, que consiste en escoger de manera aleatoria como control solo uno de los 2 controles que tenía el CCO simétrico y que fue propuesto por Navidi y Weindhandl<sup>18</sup> en el año 2002.

**Tabla 2.** Características de los escenarios de los estudios de simulación sobre diseños case-crossover de aplicación a la relación entre contaminación atmosférica y salud.

Autor (año)	Tendencia a largo plazo	Tendencia a corto plazo (estacionalidad)	Contaminante <sup>a</sup>	Variable evento <sup>a</sup>	Ciudad de obtención de los datos reales	Periodo de estudio
Navidi(1998)	Si	No	PM <sub>10</sub>	S	10 comunidades del sur de California	1 de enero a 30 de diciembre de 1994
Bateson y Schwartz(1999)	Si <sup>b</sup>	Si <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Seattle	1988-1990
Lumley y Levy(2000)	Si	Si	Humos negros	S	King County(Washington)	1989-1994
Lee et al (2000)	No	Si	S	Mortalidad	Seoul	1 de octubre de 1991 a 30 de septiembre de 1993
Bateson y Schwartz(2001)	Si	Si	S	C	-----	3 años
Levy y lumley(2001)	Si	No	Humos negros	S	King County(Washington)	3 de octubre de 1988 a 25 de junio de 1994
Navidi y Weinhandl(2002)	Si <sup>b</sup>	Si <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Denver	1989-1992
Fung et al(2003)	Si	Si	PM <sub>2.5</sub>	S	Toronto	1981-1993
Figueiras et al(2005)	Si <sup>b</sup>	Si <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Barcelona	1995-1997

- a) S: Simulada (variable generada matemáticamente a partir de las otras variables que entran en la simulación), C: Creada (variable generada de manera artificial pero no a partir de las otras variables que entran en la simulación).  
 b) Las simulaciones de Bateson and Schwartz(1999), Navidi y Weinhandl(2002) y Figueiras et al(2005) comparan el mismo escenario de simulación en el sentido que utilizan la misma ecuación para generar la tendencia y la estacionalidad en la serie de datos.

Los estudios de simulación han mostrado los siguientes resultados, en orden cronológico (Ver tabla 2 para más detalles):

Navidi<sup>16</sup> en 1998, en un escenario de simulación que parte de datos de  $PM_{10}$  reales y de una variable de confusión no medida que genera tendencia a largo plazo, compara un diseño CCO unidireccional con un CCO bidireccional *full stratum*, encontrando que el bidireccional produce menor sesgo.

Bateson y Schwartz<sup>17</sup> en 1999, en un escenario de simulación que parte de datos de  $PM_{10}$  reales y de una variable de confusión no medida que genera tendencia a largo plazo y estacionalidad (tendencias a corto plazo), compara el diseño de regresión de series temporales de Poisson con diversos diseños CCO, tales como el diseño unidireccional, el *full stratum*, el *random matched pair*, y el simétrico, con unos periodos control entre 1 y 4 semanas antes y después del evento. Los resultados de esta simulación indican que el diseño CCO simétrico es el que presenta el mejor comportamiento en cuanto a sesgo, pero sin embargo presenta una eficiencia inferior a la de los diseños de series temporales de Poisson (su eficiencia es el 66% de la de las series temporales de Poisson).

Lumley y Levy<sup>48</sup> en 2000 comparan el diseño CCO simétrico con el EPT en un escenario de simulación que parte de datos de humos negros reales y de una variable de confusión no medida que genera sesgo y estacionalidad, encontrando un mejor comportamiento con el EPT, si bien ambos muestran un sesgo pequeño.

Lee et al<sup>49</sup> en 2000, en un escenario de simulación que parte de datos de mortalidad reales y de una variable de confusión no medida que genera estacionalidad, comparan el diseño CCO unidireccional con el CCO simétrico, encontrando un mejor comportamiento de éste último, aunque el sesgo au-

mentaba cuando el número de ondas de la estacionalidad era incompleto.

Bateson y Schwartz<sup>30</sup> en 2001 intentan estudiar la mejor distancia en la que usar los días control en el diseño CCO simétrico, en un escenario con tendencia y estacionalidad en el cual todas las variables eran simuladas. Estudian días control desde uno hasta 28 días antes y después del evento, encontrando que la mejor distancia es la de 7 días antes y después del evento.

Levy et al<sup>47</sup> en 2001, en un escenario de simulación que parte de datos de humos negros reales y de una variable de confusión no medida que genera tendencia a largo plazo pero no estacionalidad, comparan el diseño CCO unidireccional con el CCO simétrico con distinto número de periodos control y a distintas separaciones con respecto al periodo evento, así como la influencia de la autocorrelación entre periodos control y el solapamiento, concluyendo que el diseño CCO simétrico funciona mejor, con un menor sesgo cuando la distancia de los periodos control con respecto al evento era 7 días, así como cuando se evitaban la autocorrelación y el solapamiento.

Navidi y Weindahl<sup>18</sup> en 2002 realizan una simulación en un escenario que parte de datos reales de  $PM_{10}$  y de una variable de confusión no medida que genera estacionalidad y tendencia, en la que comparan el diseño de series temporales de Poisson con respecto a los siguientes diseños CCO: simétrico con los periodos control separados 7 días respecto al caso, semisimétrico con el periodo control separado 7 días respecto al caso, *random matched pair* y *full stratum*, concluyendo que el mejor comportamiento corresponde al del diseño semisimétrico.

Fung y Krewski<sup>44</sup> en 2003 realizan una simulación en un escenario de simulación que parte de datos de  $PM_{2.5}$  reales y de

una variable de confusión no medida que genera tendencia a largo plazo y estacionalidad, en la que comparan el diseño de series temporales de Poisson con los diseños CCO unidireccional, simétrico y semisimétrico, concluyendo que el diseño simétrico presentaba un mejor comportamiento en cuanto a sesgo que los otros diseños estudiados, pero similar al de series temporales de Poisson, siendo este último el que presentaba una mejor cobertura y poder estadístico, debido a su mayor eficiencia.

Figueiras et al<sup>41</sup> en 2005, en un estudio de simulación en un escenario de simulación que parte de datos de  $PM_{10}$  reales y de una variable de confusión no medida que puede generar estacionalidad y tendencia a corto plazo, comparan el diseño de series temporales de Poisson con varios diseños CCO, como el simétrico, el semisimétrico, el EPT, el fullsimétrico (14 periodos control antes y después del evento) analizado mediante diseños longitudinales y el fullsemisimétrico (7 periodos control antes o después del evento) analizado mediante diseños longitudinales y encuentran que este último es el que presenta un menor sesgo, así como una mejor cobertura y poder estadístico; sin embargo, es un diseño que resulta inestable, al variar el valor de beta (fuerza de la asociación entre el contaminante y el evento) con respecto a los valores usuales. El CCO semisimétrico presentó menos sesgos que el simétrico o el EPT (estos dos últimos presentaron similares resultados entre ellos) pero la desventaja de un menor poder estadístico.

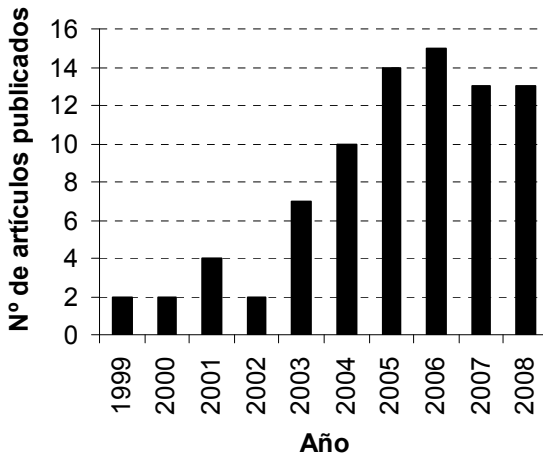
En todos estos estudios de simulación es particularmente interesante que tres de ellos comparten las ecuaciones en los escenarios para generar la tendencia y la estacionalidad de la serie: el de Bateson y Schwartz<sup>17</sup> en 1999, el de Navidi y Weinhald<sup>18</sup> en 2002 y el de Figueiras et al<sup>41</sup> en 2005. Si bien utilizan datos de contaminación reales distintos.

Peters A et al<sup>36</sup> en 2006 realizaron un estudio de comparación consistente en analizar una base de datos reales, tanto

por un diseño CCO como por otro alternativo y comparar el resultado, encontrando que el diseño CCO EPT producía similares resultados y conclusiones que el diseño de series temporales de Poisson o que el análisis por regresión de Cox.

### Estudio de la relación entre contaminación y salud mediante diseños CCO

Como podemos observar en la figura 3, el diseño CCO está experimentando una creciente utilización en su aplicación para el análisis de la relación entre la contaminación atmosférica y sus efectos sobre la salud a corto plazo.



**Figura 3.** Evolución en la utilización del diseño CCO para analizar la relación a corto plazo entre la contaminación atmosférica y la salud

En la tabla 3 se detallan los aspectos de los estudios que se han publicado.

**Tabla 3.** Detalles de los artículos que han aplicado la metodología case-crossover (CCO) para estudiar la relación entre contaminación atmosférica y salud

Autores (año de publicación)	País <sup>1</sup>	Población de estudio <sup>2</sup>	Tipo de diseño CCO <sup>3</sup>	Exposición <sup>4</sup>	Variable resultado <sup>5</sup>
Stafoggia et al. (2008)	Ita	PG edad >35 años	TS(m, all d but 1 d between)	PM <sub>10</sub>	M no accidental
Son et al. (2008)	SK	PG	SB(±7d), SB(±7, 14d), SB(±7, 14, 21d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	Mpostneonatal
Ljungman et al. (2008)	Sw	E con marcapasos	TS(m, =wd, =h)	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub>	Ep arritmia ventricular
Carracedo-Martínez et al. (2008)	Sp	PG	SB(±7d)	BS, SO <sub>2</sub>	LTE por causas respiratorias y cardiovasculares
Tecer et al. (2008)	Tu	PG edad < 14 años	SB(±7-14d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	AH por causas respiratorias
Pope et al. (2008)	US	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Lee et al. (2008)	Chi	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Laurent et al. (2008)	Fr	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	LTE por asma
Yang et al. (2008)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Xu et al. (2008)	US	PG	SB(±7, 14d); TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub>	AH por causas respiratorias y cardiovasculares
Perez et al. (2008)	Sp	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	M no accidental
Jalaludin et al. (2008)	Au	PG edad > 1 y <14 años	TS(m, all d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , CO	UH por asma
Segala et al. (2008)	Fr	PG edad < 3 años	SB(±7-8, 14-15d)	PM <sub>10</sub> , BS, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	UH por bronquiolitis
Yamakazi et al. (2007)	Jp	PG edad > 65 años	TS(m, =wd, =h)	PM <sub>7</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M por ACV
Henrotin et al. (2007)	Fr	PG	SB(±7, 14, 21, 28d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>x</sub>	Ictus
Kim et al. (2007)	SK	PG	SB(±7d), SB(±7, 14d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	UH por asma.
Villeneuve et al. (2007)	Ca	PG	SB(±7, 14d); TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	UH por asma.

Tabla 3. (Continuación).

Autores (año de publicación)	País <sup>1</sup>	Población de estudio <sup>2</sup>	Tipo de diseño CCO <sup>3</sup>	Exposición <sup>4</sup>	Variable resultado <sup>5</sup>
Maynard et al. (2007)	US	PG	TS(m, all d but 2 d between)	BS, partículas de sulfatos	M no accidental, cardiovascular y respiratoria
Johnston et al. (2007)	Au	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub>	AH por causas cardiovasculares y respiratorias
Peel et al. (2007)	Ca	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	UH por causas cardiovasculares.
Forastiere et al. (2007)	Ita	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub>	M no accidental
Lee et al. (2007)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por EPOC
Yang et al. (2007)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por asma
Yang et al. (2007)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por EPOC
Lee et al. (2007)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Cheng et al. (2007)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por neumonía
Barnett et al. (2006)	Au, NZ	PG edad > 15 años	TS(m, all d but ± 1d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por causas cardiovasculares
Hinwood et al. (2006)	Au	PG	TS( m, =wd)	BS, PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por causas cardiovasculares y respiratorias
Zanobetti et al. (2006)	US	PG edad > 65 años	TS(m, d=T)	PM <sub>2.5</sub> , BS, CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por infarto miocárdio y neumonía
Rich et al. (2006)	US	E con marcapasos	TS(m, =wd, =h)	PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Ep arritmia ventricular
Tsai et al. (2006)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	M postneonatal
Tsai et al. (2006)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por asma
Karr et al. (2006)	US	PG edad < 1 año	TS(m, =wd)	PM <sub>2.5</sub> , CO, NO <sub>2</sub>	AH por bronquiolitis
Wellenius et al. (2006)	US	PG edad > 65 años	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Rich et al. (2006)	US	E con marcapasos	TS(m, =wd, =h)	BS, PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Ep fibrilación auricular paroxística
Medina-Ramon et al. (2006)	US	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , O <sub>3</sub>	AH por neumonía, EPOC

Tabla 3. (Continuación).

Autores (año de publicación)	País <sup>1</sup>	Población de estudio <sup>2</sup>	Tipo de diseño CCO <sup>3</sup>	Exposición <sup>4</sup>	Variable resultado <sup>5</sup>
Zeka et al. (2006)	US	PG	TS (m, =wd)	PM <sub>10</sub>	M no accidental, cardiovascular y respiratoria
Symons et al. (2006)	US	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>2.5</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Villeneuve et al. (2006)	Ca	PG edad >65 años	TS (m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	UH por ictus isquémico
Yang et al. (2006)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	M postneonatal
Pope et al. (2006)	US	PG	TS (m, =wd)	PM <sub>2.5</sub> , PM <sub>10</sub>	Eventos isquémicos coronarios
Peters et al. (2005)	Ge	PG	U(-1-3)d);U(-1-3)d, =h); SB(±7, 14d); SB(±7, 14d, =h); SB(±7-14d); SB(±7-14d, =h); TS(m, =wd); TS(m, =wd, =f)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , TSP, SO <sub>2</sub> , CO, NO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por infarto de miocardio
Wellenius et al. (2005)	US	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, NO <sub>2</sub>	AH por ACV
Zeka et al. (2005)	US	PG	TS (m, =wd)	PM <sub>10</sub>	M no accidental
Zonabetti et al. (2005)	US	PG	TS (m, =wd)	PM <sub>10</sub>	AH por infarto de miocardio
Lin et al. (2005)	Ca	PG edad < 14 años	SB(±14)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por infección respiratoria
Forastiere et al. (2005)	Ita	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M cardiovascular no hospitalaria
Rich DQ et al. (2005)	US	E con marcapasos	TS(m, =wd, =h)	PM <sub>2.5</sub>	Aritmias cardíacas
Wellenius et al. (2005)	US	PG edad > 65 años	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por insuficiencia cardiaca
Barnett et al. (2005)	Au, NZ	PG edad <14 años	SB(±2-14d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , CoH, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	AH por causas respiratorias
Luginaah et al. (2005)	Ca	PG	SB(±14d)	PM <sub>10</sub> , CoH, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	AH por causas respiratorias
Chang et al. (2005)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	AH por causas cardiovasculares
Ruidavets et al. (2005)	Fr	PG	U(-7, 14, 21, 28d);SB(±7d)	O <sub>3</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	AH por infarto de miocardio
Sullivan et al. (2005)	US	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO	Infarto de miocardio
Schwartz et al. (2005)	US	PG	TS(m, d=7)	O <sub>3</sub>	M no accidental

Tabla 3. (Continuación).

Autores (año de publicación)	País <sup>1</sup>	Población de estudio <sup>2</sup>	Tipo de diseño CCO <sup>3</sup>	Exposición <sup>4</sup>	Variable resultado <sup>5</sup>
Romieu et al. (2004)	Mex	PG edad > 1 mes y < 1 año	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub>	M por causas respiratorias
Schwartz et al. (2004)	US	PG	SB(±7d); TS(m, d = T)	PM <sub>10</sub>	M no accidental
Filleul et al. (2004)	Fr	PG edad > 65 años	SSB(+ or -7d)	BS	M no accidental y cardiovascular
Rich et al. (2004)	Ca	E con marcapasos	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Aritmias cardíacas
Bateson et al. (2004)	US	PG edad > 65 años	SB(±6-14d)	PM <sub>10</sub>	AH por causas cardíacas y respiratorias
Schwartz et al. (2004)	US	PG	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub>	M accidental
Boutin-Fortano et al. (2004)	Fr	PG edad > 3 y < 49 años	U(-7d)	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	UH por asma
Yang et al. (2004)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por causas cardiovasculares
Yang et al. (2004)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M no accidental
D'ippoliti et al. (2003)	Ita	PG	TS( m, =wd)	TSP, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	AH por infarto de miocardio
Kan et al. (2003)	Chi	PG	U(-7, 14, 21d); SB(±7, 14, 21d)	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	M no accidental
Lin et al. (2003)	Ca	PG edad > 6 y < 12 años	SB(±14d)	CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por asma
Sullivan et al. (2003)	US	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , CO, SO <sub>2</sub>	Pero cardíaco
Tsai et al. (2003)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , BS, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M no accidental
Tsai et al. (2003)	Chi	PG	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , BS, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por ictus
Yang et al. (2003)	Ca	PG edad < 14 años y > de 65 años	SB(±7d)	CoH, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	AH por causas respiratorias
Lin et al. (2002)	Ca	PG edad de 6 a 12 años	U(-14d); SB(±14d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	AH por asma
Sunyer et al. (2002)	Sp	E asmáticos edad > 14 años	TS( m, =wd)	PM <sub>10</sub> , BS, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M por Asma

Tabla 3. (Continuación).

Autores (año de publicación)	País <sup>1</sup>	Población de estudio <sup>2</sup>	Tipo de diseño CCO <sup>3</sup>	Exposición <sup>4</sup>	Variable resultado <sup>5</sup>
Kwon et al. (2001)	SK	E con insuficiencia cardíaca	SB(±7, 14d)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M no accidental
Levy et al. (2001)	US	PG	TS(m, =wd)	PM <sub>2.5</sub> , PM <sub>10</sub>	Paro cardíaco
Peters et al. (2001)	US	PG	U(-2, 3, 4d)	PM <sub>2.5</sub>	Infarto de miocardio
Sunyer et al. (2001)	Sp	E con EPOC edad > 35 años	SB(±7d)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M no accidental
Sunyer et al. (2000)	Sp	E con EPOC edad > 35 años	SB(±7d)	BS	M no accidental
Checkoway et al. (2000)	US	PG	TS, (m, =wd)	BS, PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO	Paro cardíaco
Lee et al. (1999)	SK	PG	U(-7d); U(-7, 14d); U(+7d); U(+7, 14d); SB(±7d)	TSP, SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M no accidental
Neas et al. (1999)	US	PG	SB(±7, 14, 21d)	TSP	M no accidental

1) Ita : Italia , SK :Corea del Sur , Sw : Suecia , Sp : España , Tu : Turquía, US :Estados Unidos de América, Chi : China, Fr : Francia, Au : Australia, Ja : Japón, Ca : Canadá, NZ : Nueva Zelanda , Mex : México .

2) PG : Población general, E : enfermos .

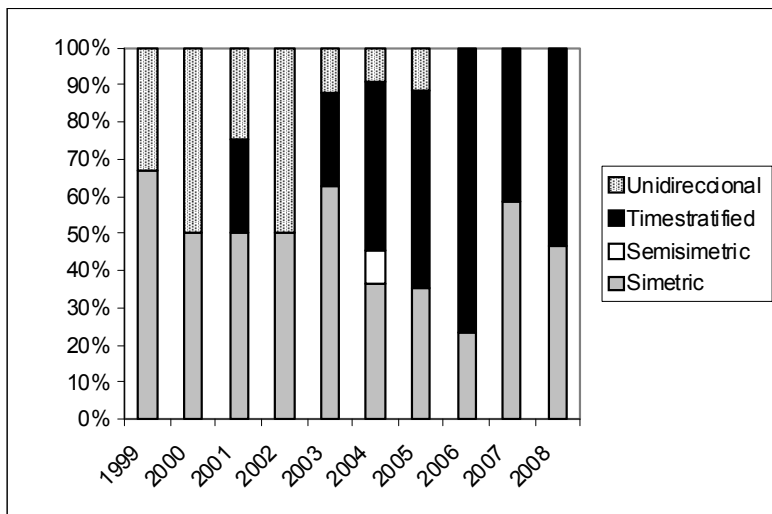
3) SB: CCO bidireccional simétrico SSB : CCO bidireccional semisimétrico : CCO *time-stratified* , U :CCO unidireccional. Interpretación de los periodos control :SB(±7d): Como periodo control el 7º día antes y después del caso; SB(±7,14d): Como periodo control los días 7 y 14 antes y después del caso , SB(±7,14d) Como periodo control los días 7 al 14 antes y después del caso; TS(m, =wd): como periodos control todos los días del mismo mes que el caso que sean el mismo día de la semana; TS(m, =wd, =h): como periodos control horas que coincidan con las del caso en los días dentro del mismo mes que el caso y que sean el mismo día de la semana, TS(m, d=T) : como periodos control días dentro del mismo mes que el caso que tengan igual temperatura que el día caso ; TS(m, all d but 1 d between): como periodos control todos los días del mismo mes que el caso, excepto 1 día entre cada 2 días control. U(-7d) : un día control 7 días antes que el caso.

4) BS:Humos negros, TSP:Partículas totales en suspensión, CoH: Coeficiente de Haze(Tipo de medición de partículas en suspensión).

5) M :Mortalidad, Ep :episodio LTE : Llamadas telefónicas a emergencias, AH : Admisión hospitalaria, UA : Urgencia hospitalaria.

Los artículos de Lee JT et al<sup>127</sup> y Neas LM et al<sup>128</sup> publicados en 1999 fueron los primeros estudios publicados sobre la relación entre contaminación atmosférica y mortalidad utilizando el diseño CCO. En ellos hacían un reanálisis de los efectos de la contaminación atmosférica y la mortalidad en las ciudades de Filadelfia y Seúl respectivamente, obteniendo una relación que resultaba estadísticamente significativa. Estos resultados son similares a los que se habían obtenido previamente con el diseño de series temporales de Poisson y afianzan la relación de causalidad, ya que se ha encontrado relación con la aplicación de distintos métodos estadísticos.

Si analizamos cuáles han sido los diseños CCO más habitualmente empleados en los artículos publicados, vemos que el 7,78% fueron diseños unidireccionales y el resto diseños bidireccionales. Los diseños bidireccionales más usados son el simétrico (42,22% de las ocasiones) y el EPT (48,89% de las ocasiones). El diseño bidireccional semisimétrico solo se ha utilizado en el 1,11% de las ocasiones. En la figura 4 se representa la evolución en el tiempo de la utilización de los distintos diseños CCO, siendo de destacar que los diseños unidireccionales, si bien se usaron en el periodo inicial, paulatinamente han sido desechados.



**Figura 4.** Evolución en la utilización de los distintos diseños CCO para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud

En la tabla 3 podemos ver que la mayoría de los estudios publicados usan como duración el periodo control de un día, pero en 6 artículos se utiliza una hora como duración de cada periodo control. En esa tabla también podemos ver el número de días control y la separación de estos periodos control con respecto al evento que se han empleado en los distintos estudios de aplicación con diseños CCO. El diseño unidireccional CCO se ha usado considerando como día control el día 7 antes del caso en 2 ocasiones, y otros esquemas distintos en solo una ocasión. El diseño CCO simétrico se ha utilizado considerando como días control el día 7 antes y después del caso en 23 ocasiones, los días 7 y 14 antes y después del caso en 6 ocasiones, el día 14 antes y después del caso en 4 ocasiones, los días 7, 14 y 21 antes y después del caso en 3 ocasiones, los días 7 a 14 antes y después del caso en 2 ocasiones, y otras alterna-

tivas diferentes en solo una ocasión. El diseño CCO EPT se ha usado considerando como día control los mismos días de la semana que el caso dentro del mismo mes en 33 ocasiones, todos los días del mismo mes que el caso con igual temperatura en 3 ocasiones y otros esquemas variados en solo una ocasión cada uno.

Las variables dependientes estudiadas fueron de mortalidad en 25 casos y de morbilidad en el resto, más concretamente ingresos hospitalarios en 35 ocasiones, urgencias hospitalarias en 6 ocasiones, episodios de arritmias registrados en marcapasos en 5 ocasiones, llamadas telefónicas a emergencias médicas en 2 ocasiones, y otras basadas en registros específicos de enfermedad como ictus (1 ocasión), paro cardíaco (3 ocasiones), cardiopatía isquémica (2 ocasiones).

En 73 artículos se analiza como contaminante atmosférico el nivel de partículas, en la mayor parte de los casos medidas como  $PM_{10}$  (58 ocasiones), seguido en orden decreciente por partículas de menos de  $2,5 \mu m$  de diámetro ( $PM_{2,5}$ ) en 22 ocasiones, humos negros (11 ocasiones), coeficiente de haze (3 ocasiones), partículas totales en suspensión (3 ocasiones), partículas de sulfatos (1 ocasión) y partículas de menos de  $7 \mu m$  de diámetro ( $PM_7$ ) en 1 ocasión. En cuanto a los contaminantes gaseosos,  $SO_2$  se utilizó en 45 ocasiones, dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) en 48, ozono ( $O_3$ ) en 44, monóxido de carbono (CO) en 39 y óxidantes totales (Ox), óxidos de nitrógeno totales ( $NO_x$ ), monóxido de nitrógeno (NO) solo se analizaron en una ocasión.

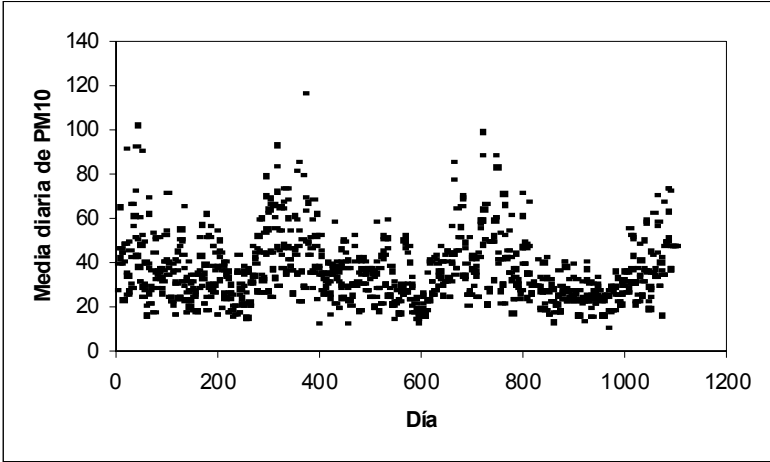
En la mayoría de los casos se estudia población general, solamente en 9 estudios se analizó población enferma: en 5 ocasiones pacientes portadores de marcapasos cardíacos, en 2 ocasiones enfermos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), en 1 ocasión enfermos de asma y con insuficiencia cardíaca respectivamente.

En cuanto al país de realización de los estudios, en la mayoría de los casos proceden de Estados Unidos de América, donde se realizaron estudios con la metodología CCO para analizar el efecto de la contaminación atmosférica en 28 ocasiones, seguidos de China en 16 ocasiones, Canadá en 8, Corea del sur, España y Australia en 4, Francia en 3, Nueva Zelanda en 2, y Suecia, Turquía, Japón, Alemania y México en una ocasión cada una.

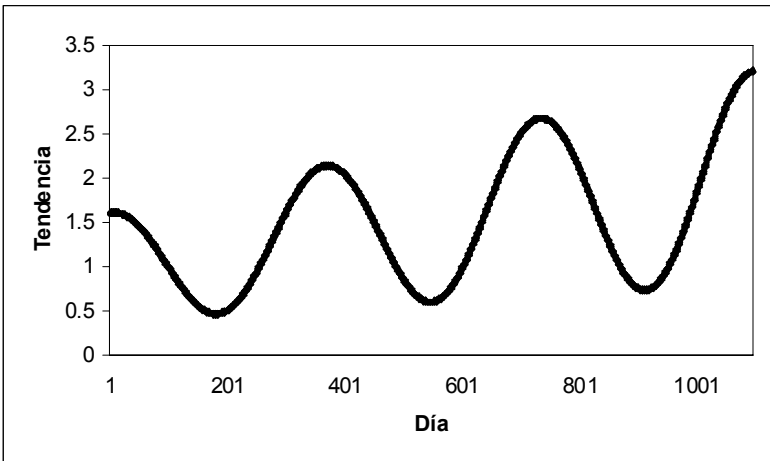
En cuanto al aprovechamiento de la ventaja del análisis de la modificación de efecto de variables a nivel individual, se ha encontrado que 11 artículos la utilizan (14,3%) del total de artículos de aplicación de diseños CCO.

## **4.2. Resultados de la simulación**

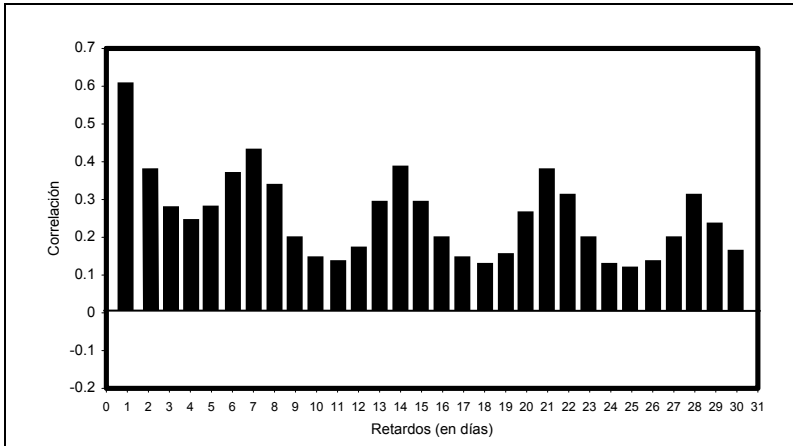
En las figuras 5 se muestran las condiciones de la simulación. En la figura 5a se representa la secuencia que fue usada como variable independiente para generar las réplicas. En la figura 5b se muestra la variable de confusión con tendencia y estacionalidad. La figura 5c es la gráfica de autocorrelaciones cercanas (de 1 a 30 días) y en la figura 5d se muestran las autocorrelaciones lejanas de  $PM_{10}$  (28 a 364 días, a intervalos de 28 días). La variable  $PM_{10}$  en la ciudad de Barcelona presenta una tendencia negativa estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) de -0,00596. Por otro lado, la variable confusora ha resultado tener una correlación de 0,3670 con  $PM_{10}$ .



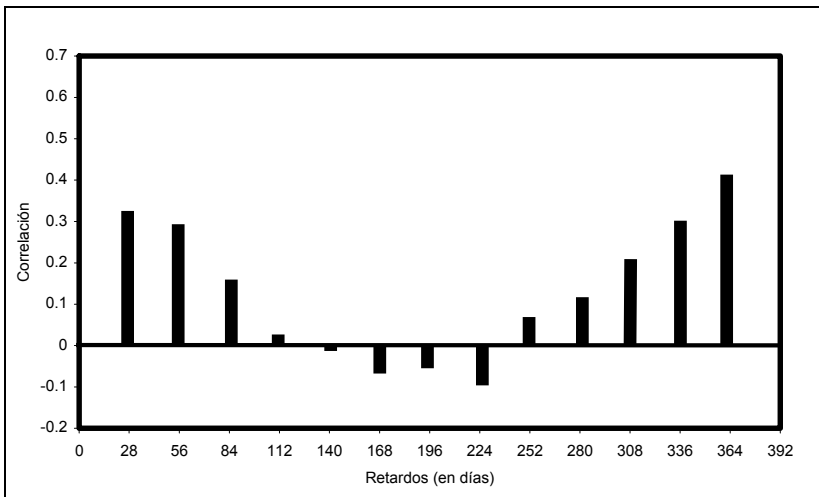
**Figura 5a.** Media diaria de niveles de PM<sub>10</sub> en Barcelona para 1.096 días en el periodo 1995-1997. Unidades mostradas en µg/m<sup>3</sup>



**Figura 5b.** Variable de tendencia asociada tanto con la medida de exposición diaria como con el resultado para introducir confusión



**Figura 5c.** Autocorrelacion en la serie de  $PM_{10}$  de Barcelona, 1 a 30 días



**Figura 5d.** Autocorrelación de  $PM_{10}$ , 28 a 364 días, a intervalos de 28 días

En la tabla 4 se puede observar que los diseños CCO (ya sean el simétrico, semisimétrico o EPT) analizados con regresión logística condicional alcanzan un porcentaje de cobertura de alrededor del 95%, aunque la eficiencia estadística en algunos casos es la mitad de la de los estudios de series temporales de Poisson (23,5 vs 61,4%). Los sesgos del CCO simétrico y del EPT son más elevados que los del diseño semisimétrico y parecen presentar cierta sensibilidad a la confusión por estacionalidad. Cuando los diseños CCO son analizados por medio de modelos de supervivencia no parecen aportar ninguna ventaja sobre los modelos de casos y controles emparejados. Sin embargo, aplicar el diseño longitudinal GLMM, fullsimétrico o fullsemisimétrico generalmente asegura que se alcancen altos porcentajes de cobertura, un poder estadístico muy superior al de regresión logística condicional y series temporales de Poisson, así como un bajo sesgo: así, cuando el número medio de eventos es alto (22 eventos/día), el diseño CCO fullsemisimétrico analizado con GLMM presenta un sesgo del 7,9%. Más aún, cuando el número medio de eventos es bajo (2/día), el diseño fullsemisimétrico analizado mediante métodos longitudinales muestra ser muy superior a todos los demás modelos, no solo en términos de sesgo sino también en términos de cobertura y eficiencia estadística.

**Tabla 4:** Resultados del estudio de simulación donde se aplicaron diferentes métodos de análisis al estudio de la asociación entre la contaminación atmosférica y la morbilidad-mortalidad. Verdadero coeficiente=0,001

Media de eventos/día	Confusión estacional <sup>2</sup>	Series temporales analizadas con Poisson no paramétrico				Case-crossover						
		Indicadores	Gam estándar <sup>3</sup>	Con gam. exact <sup>4</sup>	Simétrico <sup>5</sup>	Analizado como casos y controles <sup>1</sup>		Analizado como datos longitudinales				
						Semimétrico <sup>6</sup>	Time-stratified <sup>7</sup>	Longitudinal <sup>10</sup>	Supervivencia <sup>11</sup>	Longitudinal <sup>10</sup>	Supervivencia <sup>9</sup>	
Media =2	No	% Sesgo <sup>12</sup>	-3,45	-3,45	6,33	-5,46	-5,59	-18,46	-25,48	2,05	-9,08	
		SD(X1000) <sup>13</sup>	1,72	1,72	2,38	2,81	2,18	1,16	1,16	1,17	1,30	1,49
		% Cobertura <sup>14</sup>	91,2	95,8	96,4	95,5	95,5	98,9	94,3	94,3	96,6	94,4
		% Significación <sup>15</sup>	15,7	8,7	6,5	6,4	6,4	7,6	4,2	10,7	8,7	10,5
		% Sesgo <sup>12</sup>	-7,37	-7,37	12,85	8,85	10,88	-27,31	-34,29	-34,29	-0,19	-10,83
Media =22	Sí	SD(X1000) <sup>13</sup>	1,49	1,49	2,28	2,79	2,10	1,11	1,14	1,18	1,37	
		% Cobertura <sup>14</sup>	95,0	97,0	95,9	94,7	96,0	96,9	93,5	93,5	96,9	94,6
		% Significación <sup>15</sup>	8,0	3,0	6,6	7,1	8,2	2,2	7,9	7,9	8,3	11,7
		% Sesgo <sup>12</sup>	0,78	0,78	8,79	1,80	1,81	-18,34	-29,31	-29,31	3,54	-10,44
		SD(X1000) <sup>13</sup>	0,53	0,53	0,71	0,84	0,65	0,35	0,37	0,37	0,36	0,42
Media =22	Sí	% Cobertura <sup>14</sup>	89,9	94,4	95,6	95,0	94,7	97,0	86,8	99,0	95,2	
		% Significación <sup>15</sup>	57,8	48,1	32,4	23,5	35,7	43,2	50,2	50,2	67,3	52,5
		% Sesgo <sup>12</sup>	2,34	2,34	13,07	2,92	12,73	-17,49	-28,27	-28,27	7,91	-7,35
		SD(X1000) <sup>13</sup>	0,50	0,50	0,70	0,81	0,63	0,32	0,35	0,35	0,39	0,40
		% Cobertura <sup>14</sup>	91,3	95,6	94,5	94,7	95,0	96,1	83,35	83,35	96,4	95,3
Media =22	Sí	% Significación <sup>15</sup>	61,4	51,4	37,0	23,5	42,3	53,7	60,0	70,7	62,6	

SD: Desviación estándar

1. Analizado como casos y controles emparejados mediante regresión logística
2. Por una variable con componente de tendencia y estacionalidad.
3. Analizado por medio de modelos aditivos generalizados (GAM) con respuesta de Poisson, usando funciones suaves con 7 grados de libertad por año como suavizadores para controlar la tendencia.
4. Analizado por medio de GAM con respuesta de Poisson, usando funciones suaves con 7 grados de libertad por año como suavizadores para controlar la tendencia, y un criterio de convergencia estricto, y gam.exact para calcular los errores estándar.
5. Dos días control: uno, 7 días antes, y el otro, 7 días después del evento. Los sujetos de los primeros y últimos 7 días de la serie habiendo sido eliminados.
6. Un día control aleatoriamente escogido, 7 días antes o después del evento, usando regresión logística condicional ponderada.
7. Cada estrato está formado por un mes de calendario, y los días de control son días del mismo estrato que el caso, emparejados por día de la semana.
8. Período control: 7 días antes y 7 días después del evento
9. Período control aleatoriamente escogido entre 7 días antes o 7 días después del evento
10. Analizado por medio de modelos mixtos lineales generalizados
11. Analizado por medio de la aproximación de Andersen-Gill a la regresión de riesgos proporcionales
12. % de sesgo en la media de los coeficientes de 1.000 réplicas con respecto al verdadero valor del coeficiente:  $(\hat{\beta} - \beta) / 100 / \beta$
13. Desviación estándar de los coeficientes de 1.000 réplicas.
14. % de réplicas que incluye el verdadero valor del coeficiente dentro del IC95% del coeficiente (0,001)
15. % de réplicas que resultan estadísticamente significativas (límite inferior del intervalo de confianza mayor de cero). Actúa como indicador de eficiencia

En la tabla 5 se presenta la influencia de la magnitud del efecto (desde 0 hasta 0,005) y de la autocorrelación en la exposición sobre las estimaciones de los distintos modelos. Se puede observar que los diseños CCO semisimétrico y las series temporales de Poisson parecen ser los menos afectados por la magnitud del efecto del contaminante. En general, los CCO tienden a presentar sesgos para valores bajos del coeficiente, excepto el semisimétrico. Los diseños CCO fullsemisimétricos analizados como longitudinales presentan sesgos moderados y óptimas coberturas para valores del coeficiente inferiores a 0,003, pero para coeficientes altos aumenta el sesgo y disminuyen las coberturas. Cuando se aplican a datos sin autocorrelación, se observa una disminución del sesgo en todos los diseños CCO, pero el efecto es más claro en los diseños CCO analizados como longitudinales, en los que desaparece el sesgo para coeficientes elevados.

**Tabla 5:** Efecto del verdadero valor del coeficiente del contaminante ( $PM_{10}$ ) y la autocorrelación sobre los estimadores conseguidos con diferentes métodos. Escenarios con confusión estacional (ver Figura 5b) y media de eventos 22

Verdadero coeficiente	Indicadores	Con autocorrelación <sup>1</sup>				Sin autocorrelación <sup>1</sup>			
		Series temporales analizadas con Poisson no paramétrico <sup>3</sup>		Case-crossover		Series temporales analizadas con Poisson no paramétrico <sup>3</sup>		Case-crossover	
		Simétrico <sup>4</sup>	Semisimétrico <sup>5</sup>	Time-stratified <sup>6</sup>	Full semisimétrico analizado con GLMM <sup>7</sup>	Simétrico <sup>4</sup>	Semisimétrico <sup>5</sup>	Time-stratified <sup>6</sup>	Full semisimétrico analizado con GLMM <sup>7</sup>
0	% Sesgo <sup>8</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,51	0,68	0,65	0,38	0,45	0,62	0,50	0,46
	% Cobertura <sup>10</sup>	95,4	95,9	96,0	90,8	95,1	94,8	95,9	94,4
0,0005	% Significación <sup>11</sup>	4,60	4,8	4,0	9,2	4,9	5,2	4,1	5,6
	% Sesgo <sup>8</sup>	2,78	26,06	22,29	45,83	-0,47	-2,64	5,13	24,89
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,51	0,68	0,64	0,39	0,47	0,63	0,52	0,48
0,001	% Cobertura <sup>10</sup>	94,7	95,8	94,5	94,6	93,1	94,2	94,6	92,7
	% Significación <sup>11</sup>	16,5	13,0	15,5	35,4	21,2	12,4	18,7	29,6
	% Sesgo <sup>8</sup>	2,34	13,07	12,73	7,91	1,90	3,09	5,91	14,16
0,002	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,50	0,70	0,63	0,39	0,44	0,62	0,50	0,46
	% Cobertura <sup>10</sup>	95,6	94,5	95,0	96,4	94,9	95,3	94,9	93,2
	% Significación <sup>11</sup>	51,4	37,0	42,3	70,7	63,5	39,5	56,4	72,4
0,003	% Sesgo <sup>8</sup>	2,22	6,49	7,87	-10,80	-0,87	-1,63	-0,01	5,11
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,52	0,67	0,63	0,39	0,45	0,60	0,49	0,46
	% Cobertura <sup>10</sup>	94,1	96,1	94,6	95,9	95,1	96,1	95,7	94,3
0,003	% Significación <sup>11</sup>	97,6	87,2	92,9	99,1	99,6	89,5	98,4	99,9
	% Sesgo <sup>8</sup>	1,52	3,76	4,75	-17,60	-0,41	-0,71	0,43	3,66
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,58	0,71	0,65	0,44	0,42	0,60	0,47	0,43
0,003	% Cobertura <sup>10</sup>	94,7	94,1	93,8	80,5	96,1	95,0	96,4	95,3
	% Significación <sup>11</sup>	100,0	99,2	99,7	100,0	100,0	99,8	100,0	100,0

**Tabla 5** (continuación).

Verdadero coeficiente	Indicadores	Con autocorrelación <sup>1</sup>				Sin autocorrelación <sup>1</sup>				
		Series temporales analizadas con Poisson no paramétrico <sup>3</sup>		Case-crossover		Series temporales analizadas con Poisson no paramétrico <sup>3</sup>		Case-crossover		Full simétrico analizado con GLMM <sup>7</sup>
		Simétrico <sup>4</sup>	Semisimétrico <sup>5</sup>	Time-stratified <sup>6</sup>	Full simétrico analizado con GLMM <sup>7</sup>	Simétrico <sup>4</sup>	Semisimétrico <sup>5</sup>	Time-stratified <sup>6</sup>		
0,004	% Sesgo <sup>8</sup>	0,62	0,42	3,28	-21,25	0,23	-0,02	0,72	3,29	
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,52	0,83	0,64	0,39	0,42	0,60	0,48	0,43	
	% Cobertura <sup>10</sup>	94,4	94,3	93,9	49,0	95,5	96,4	95,6	94,5	
	% Significación <sup>11</sup>	100,0	99,9	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
0,005	% Sesgo <sup>8</sup>	0,15	-0,30	2,20	-23,39	0,03	-0,13	0,34	2,48	
	SD(x1000) <sup>9</sup>	0,51	0,79	0,61	0,38	0,44	0,60	0,49	0,44	
	% Cobertura <sup>10</sup>	94,1	95,8	94,8	20,8	94,9	95,4	95,3	93,8	
	% Significación <sup>11</sup>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

SD: Desviación Estándar

1. Autocorrelación presente en la serie temporal del contaminante ; y sin autocorrelación la serie original es repermutada ( recolocación aleatoria de los datos existentes)
2. Analizado como casos y controles emparejados mediante regresión logística exacta
3. Analizado por medio de modelos aditivos generalizados (GAM) con respuesta de Poisson, usando funciones suaves con 7 grados de libertad por año como suavizadores para controlar la tendencia, y un criterio de convergencia estricto, y **gam.exact** para calcular los errores estándar.
4. Dos días control: uno, 7 días antes, y el otro, 7 días después del evento. Los sujetos de los primeros y últimos 7 días de la serie fueron eliminados.
5. Un día control aleatoriamente escogido, 7 días antes o después del evento, usando regresión logística condicional ponderada.
6. Cada estrato está formado por un mes de calendario, y los días de control son días del mismo estrato que el caso emparejados por día de la semana.
7. Periodo control aleatoriamente escogido entre: 7 días antes o 7 días después del evento. Analizado por medio de modelos mixtos lineales generalizados
8. % de sesgo en la media de los coeficientes de 1.000 réplicas con respecto al verdadero valor del coeficiente:  $(\hat{\beta} - \beta) \cdot 100 / \beta$
9. Desviación estándar de los coeficientes de 1.000 réplicas.
10. % de replicas que incluye el verdadero valor del coeficiente dentro del IC95% del coeficiente
11. % de replicas que resultan estadísticamente significativas límite inferior del intervalo de confianza mayor de cero. Actúa como indicador de eficiencia

### 4.3 Resultados de la aplicación a los datos de Vigo

A lo largo de los cuatro años se observa una tendencia general en aumento para el total de urgencias cardiorrespiratorias (véase tabla 6 y figura 6). Por estaciones del año, las medias son mayores durante el otoño y el invierno para las urgencias cardiovasculares (media diaria de 4,14 y 3,98 respectivamente) y durante el invierno para las respiratorias (media diaria de 3,22); ambas disminuyen durante el verano, con medias de 3,30 y 0,91 respectivamente.

El nivel de contaminación atmosférica por humos negros tiende a aumentar en el periodo estudiado, mientras que los niveles de SO<sub>2</sub>, tras una caída entre 1996 y 1997, se mantienen bastante constantes (véase tabla 7 y figura 6). La media de temperatura fue de 14,33°C, siendo la estación más calurosa el verano, con una media de 19,50°C y la más fría el invierno, con una media de 10,20°C. La media de la humedad relativa fue de 80,43 % y la de la presión atmosférica 988,23 milibares. Los casos declarados de gripe siguen un patrón estacional, con medias más elevadas en los meses de enero y febrero. La serie temporal de los pólenes presenta un patrón estacional, con valores más altos durante la primavera para los pólenes totales y durante el verano para las gramíneas (véase figura 6).

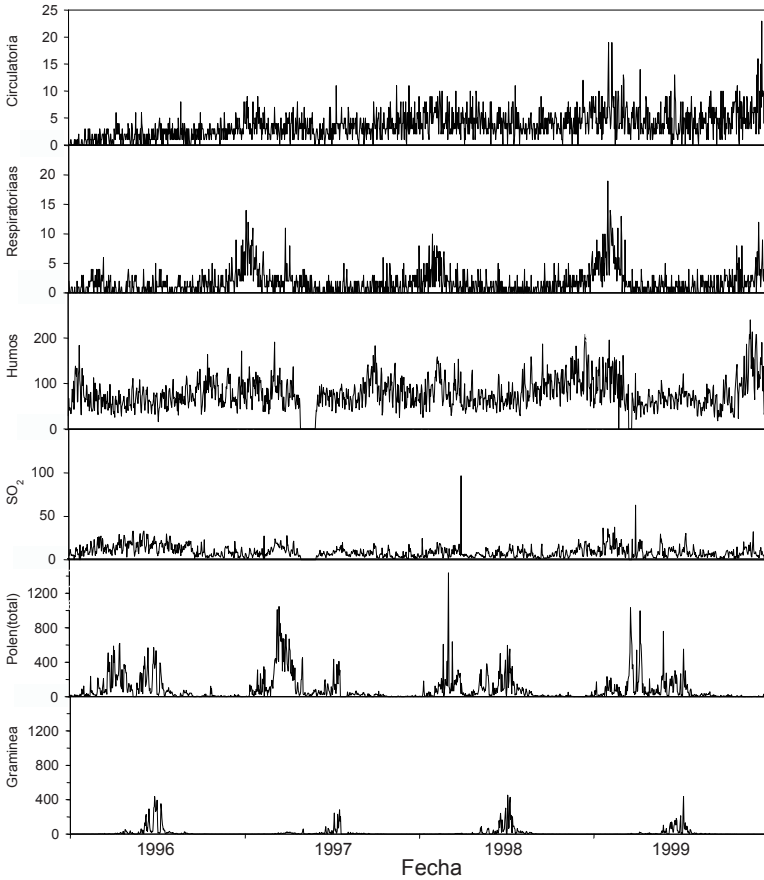
**Tabla 6.** Frecuencias anuales de emergencias por cada 100.000 habitantes

Año	cardiovasculares	respiratorias	cardiorrespiratorias
1996	167	229	396
1997	225	440	665
1998	207	552	759
1999	292	654	946

**Tabla 7.** Valores de contaminantes atmosféricos en la ciudad de Vigo

Variable	Año	Media	Mediana	DE	Máximo
SO <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	1996	12,51	11,42	7,04	33,14
	1997	7,80	6,79	4,85	27,71
	1998	7,65	6,30	6,65	96,71
	1999	9,18	7,42	7,21	62,85
Partículas (µg/m <sup>3</sup> )	1996	71,05	66,85	25,87	183,95
	1997	79,81	77,34	27,34	191,00
	1998	85,51	78,42	33,59	208,10
	1999	80,94	72,28	39,71	239,94

La tabla 8 muestra los Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza del 95% para la exposición a cada contaminante en relación con llamadas a urgencias por causas respiratorias, cardiovasculares y ambas combinadas. Un aumento de 10 µg/m<sup>3</sup> en los niveles de partículas del mismo día se asocia a un aumento del 1,97% (IC95% 1,83 a 2,11%) de llamadas telefónicas a urgencias por causas circulatorias y un aumento del 1,34% (IC95% 1,23 a 1,45%) por causas combinadas, mientras que dos días antes ocasiona un aumento en el número de llamadas por causas respiratorias del 1,95% (IC95% 1,76 a 2,14%). El SO<sub>2</sub> no muestra un efecto estadísticamente significativo con ninguna de las causas de morbilidad.



**Figura 6.** Tendencia diaria en el número de llamadas médicas a emergencias por causas circulatorias, respiratorias, niveles de humos negros ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) y de  $\text{SO}_2$  ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ), de polen total y gramíneas ( $\text{granos}/\text{m}^3$ )

**Tabla 8.** Odds Ratio (OR) y su intervalo confianza del 95% (IC 95%) para la exposición de cada contaminante con respecto a las llamadas a emergencias por causas respiratorias, cardiovasculares o cardiorespiratorias

	OR (IC 95%)	Enfermedades circulatorias	Enfermedades respiratorias	Enfermedades car- diorespiratorias
Humos negros	mismo día	1,002(1,001-1,003)*	1,001(0,999-1,002)	1,001(1,000-1,002)*
	Retardo 1 día	0,999(0,998-1,001)	1,001(0,999-1,003)	1,000(0,999-1,001)
	Retardo 2 días	1,000(0,999-1,001)	1,002(1,000-1,004)*	1,001(1,000-1,002)
	Retardo 3 días	1,000(0,999-1,002)	1,001(0,999-1,002)	1,000(0,999-1,001)
	Promedio días 0y1	1,001(0,999-1,003)	1,000(0,999-1,004)	1,001(1,000-1,002)
	Promedio días 2y3	1,000(0,998-1,002)	1,002(1,000-1,004)	1,001(0,999-1,002)
SO <sub>2</sub>	mismo día	1,003(0,997-1,009)	0,992(0,981-1,003)	1,002(0,996-1,007)
	Retardo 1 día	0,997(0,991-1,003)	1,004(0,994-1,014)	1,000(0,995-1,006)
	Retardo 2 días	0,997(0,991-1,003)	1,007(0,997-1,016)	1,001(0,995-1,002)
	Retardo 3 días	0,999(0,993-1,005)	1,001(0,992-1,009)	1,000(0,995-1,005)
	Promedio días 0y1	1,001(0,994-1,008)	0,998(0,985-1,011)	1,002(0,885-1,010)
	Promedio días 2y3	0,996(0,989-1,004)	1,005(0,994-1,015)	1,000(0,994-1,006)

\* p &lt; 0,05

Los niveles de polen muestran relación con las enfermedades respiratorias, pero no con las cardíacas. La Tabla 9 muestra los OR y su IC95% para la relación entre la exposición a corto plazo a polen y las llamadas a emergencias por causas respiratorias. Los pólenes que han mostrado esta relación son: gramíneas (mismo día), abedul (retardo de 3 días y promedio de retardo 2 y 3), aliso (retardo de 2 días), avellano (retardo de 2 días y promedio de retardo 2 y 3) y quenopodio (mismo día). Un aumento en el nivel de pólenes del percentil 95 al percentil 99 se asocia con los siguientes aumentos en las llamadas telefónicas a los servicios de urgencias: (1) Aliso de dos días antes aumenta las llamadas por causas respiratorias en un 19,62% (IC95% 19,32 a 19,92%). (2) Abedul de 3 días antes aumenta en un 30,56% (IC95% 30,02 a 31,10%) las llamadas por causas respiratorias, y en un 24,97% (IC95% 24,42 a 25,52%) el promedio del segundo y tercer día. (3) El aumento del polen de avellano provoca un aumento de las urgencias por causas respiratorias del 8,70% (IC95% 5,33 a 12,18%) dos

días antes y del 7,91 (IC95% 3,28 a 12,75%) en el promedio de los días segundo y tercero.(4) Un aumento del mismo día para los niveles de polen de quenopodio y gramíneas provoca un aumento en las llamadas por causas respiratorias del 24,91% (IC95% 13,18 a 37,85%) y del 44,99% (IC95% 44,73 a 45,25%) respectivamente.

**Tabla 9.** Odds Ratios (OR) y su intervalo de confianza del 95% (IC95%) para la exposición a cada polen con respecto a las Ilamadas a emergencias por causas respiratorias

OR (IC 95%)	Retardos					
	Mismo día	1 día de retardo	2 días de retardo	3 días de retardo	Medias de día 0 y 1	Medias de día 2 y 3
<i>Asteraceae</i>	1,022(0,916-1,141)	0,982(0,888-1,086)	1,027(0,931-1,132)	0,948(0,857-1,048)	1,000(0,871-1,148)	0,980(0,865-1,109)
<i>Alnus</i>	0,998(0,998-1,001)	1,002(0,999-1,005)	1,003(1,001-1,006)*	1,000(0,997-1,003)	1,001(0,997-1,004)	1,003(0,999-1,006)
<i>Betula</i>	1,003(0,998-1,008)	1,003(0,998-1,007)	1,003(0,998-1,007)	1,005(1,001-1,009)*	1,003(0,998-1,008)	1,004(1,000-1,009)*
<i>Corylus</i>	0,993(0,989-1,029)	1,003(0,973-1,033)	1,042(1,010-1,076)*	1,013(0,978-1,050)	0,998(0,955-1,042)	1,052(1,006-1,099)*
<i>Cupressaceae</i>	0,996(0,991-1,001)	1,004(0,999-1,008)	1,001(0,996-1,005)	0,998(0,993-1,003)	1,001(0,994-1,006)	0,999(0,993-1,005)
<i>Chenopodiaceae</i>	1,118(1,012-1,233)*	0,959(0,865-1,062)	0,998(0,905-1,100)	0,970(0,879-1,070)	1,065(0,933-1,214)	0,973(0,857-1,105)
<i>Ericaceae</i>	0,997(0,980-1,013)	1,012(0,993-1,030)	1,004(0,986-1,022)	1,005(0,984-1,026)	1,005(0,984-1,026)	1,005(0,984-1,027)
<i>Castanea</i>	1,001(0,992-1,009)	0,993(0,982-1,004)	0,993(0,982-1,005)	0,993(0,982-1,005)	0,997(0,986-1,008)	0,991(0,977-1,004)
<i>Quercus</i>	1,002(0,998-1,007)	1,003(0,998-1,007)	1,002(0,997-1,006)	1,001(0,998-1,005)	1,003(0,998-1,008)	1,002(0,997-1,006)
<i>Myrtaceae</i>	0,999(0,986-1,012)	0,997(0,982-1,011)	1,006(0,993-1,019)	1,012(0,999-1,026)	0,997(0,980-1,014)	1,014(0,997-1,030)
<i>Fraxinus</i>	0,986(0,933-1,041)	1,001(0,957-1,047)	1,000(0,956-1,046)	1,004(0,958-1,052)	0,991(0,930-1,056)	1,003(0,948-1,061)
<i>Olea</i>	1,003(0,998-1,008)	0,999(0,994-1,004)	0,999(0,995-1,004)	1,001(0,997-1,004)	1,001(0,995-1,007)	1,000(0,995-1,005)
<i>Pinaceae</i>	1,000(0,999-1,001)	1,000(0,999-1,001)	1,001(0,999-1,001)	1,000(0,999-1,001)	1,000(0,999-1,002)	1,001(0,999-1,002)
<i>Plantaginaceae</i>	1,011(0,996-1,026)	1,008(0,994-1,022)	0,989(0,974-1,003)	0,999(0,986-1,012)	1,013(0,996-1,030)	0,992(0,975-1,008)
<i>Plantanaceae</i>	1,005(0,998-1,012)	1,003(0,995-1,010)	1,000(0,993-1,007)	1,001(0,993-1,008)	1,005(0,997-1,013)	1,000(0,992-1,008)
<i>Poaceae</i>	1,002(0,999-1,003)	1,000(0,998-1,002)	0,999(0,996-1,001)	1,000(0,997-1,001)	1,001(0,999-1,004)	0,999(0,996-1,001)
<i>Polygonaceae</i>	1,003(0,982-2,562)	1,082(0,428-2,738)	0,462(0,172-2,238)	0,992(0,349-2,821)	1,085(0,289-4,072)	0,405(0,098-1,674)
<i>Salicaceae</i>	1,010(0,979-1,042)	1,007(0,969-1,045)	1,012(0,979-1,045)	1,009(0,978-1,041)	1,015(0,971-1,062)	1,018(0,976-1,061)
<i>Urticaceae</i>	1,000(0,997-1,002)	0,982(0,888-1,086)	1,001(0,999-1,003)	1,000(0,997-1,002)	0,999(0,996-1,002)	1,000(0,998-1,003)
<i>Graminaeae</i>	1,002(1,000-1,004)*	1,001(0,999-1,003)	0,999(0,997-1,001)	1,000(0,998-1,002)	1,002(0,999-1,004)	0,999(0,997-1,002)

\* p< 0,05

Al evaluar conjuntamente contaminantes atmosféricos y polen no hemos encontrado variaciones en la relación observada. Se ha estudiado la posible interacción entre pólenes y contaminantes atmosféricos, pero no se ha hallado una relación estadísticamente significativa.



## **5-DISCUSIÓN**

### **5.1-Discusión de la revisión bibliográfica**

En los últimos años se ha incrementado mucho el empleo de diseños CCO, particularmente a partir de 2003, alcanzando su máximo en 2006. La mayoría de los nuevos diseños CCO fueron surgiendo apoyándose en estudios de simulación, que a menudo no presentan los mismos escenarios, y además no evalúan el comportamiento para variables con características especiales, como las discontinuas. La mayoría de los estudios de aplicación analizan el efecto de partículas sobre morbilidad, pero pocos estudios aprovechan la fortaleza de los diseños CCO para evaluar las potenciales modificaciones de efecto con variables individuales.

El aumento en la utilización del diseño CCO parece coincidir con una crisis en los modelos de regresión de Poisson con GAM debido a sus problemas, ya que en 2002 se descubrió que los paquetes estadísticos más frecuentes producían estimadores inestables a causa de una convergencia inadecuada<sup>7</sup>, y a que podrían infraestimar los EE debido a la presencia de concurvidad en los datos<sup>129</sup>. El diseño CCO representa, en parte, una solución a los problemas de los métodos GAM, pero, para que se generalice su empleo, es necesario esperar un periodo de latencia. Por ello, no se nota un gran incremento en su utilización hasta unos años después del descubrimiento de los problemas de los GAM, presentándose el pico de empleo con un periodo de latencia de 2 años desde el descubrimiento de los problemas de concurvidad. Actualmente, también se están empleando otros métodos para analizar la rela-

ción entre la contaminación atmosférica y la salud, tales como los métodos geográficos<sup>130</sup>.

Se observa un esfuerzo por intentar perfeccionar el diseño CCO, desde el inicial unidireccional hasta los diseños bidireccionales con sus subtipos. Los sucesivos estudios de simulación se centran en analizar aquellos diseños que presentan mejores resultados en las simulaciones previas. Los diseños CCO bidireccionales simétrico y EPT son los que han resultado mejores en más ocasiones en diferentes simulaciones. Se observan resultados contradictorios en el diseño CCO semisimétrico, ya que en algún estudio de simulación es superior al diseño simétrico, pero en otros el resultado es el contrario<sup>44</sup>, lo que puede ser debido a diferencias en el escenario de simulación. En lo que existe consistencia es que el método CCO semisimétrico presenta una baja eficiencia estadística con respecto al método CCO simétrico o EPT.

Destaca la rápida adopción de los diseños CCO simétrico y EPT, ya que se empezaron a aplicar el mismo año en que fue propuesta su metodología en la literatura científica. En cambio, el diseño CCO semisimétrico tardó más en empezar a usarse, ya que fue propuesto en el año 2002 y el primer artículo en el que se utiliza para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud se publicó en 2004.

Una de las posibles explicaciones para que en la práctica se usen distintos diseños es que fueron descubiertos en diferentes momentos del tiempo, así los métodos unidireccionales fueron descritos antes que los bidireccionales y dentro de los bidireccionales, el CCO simétrico fue descrito antes que el EPT. Los métodos unidireccionales son cada vez menos usados a lo largo del tiempo que los bidireccionales porque presentan desventajas importantes, como un mal control de las tendencias. De los tres métodos bidireccionales, el semisimétrico es muy poco utilizado debido a su escasa potencia estadística. El simétrico y el EPT tienen un porcentaje de utiliza-

ción similar, con una tendencia a una mayor utilización del EPT, posiblemente porque desde el punto de vista teórico solucionaría el sesgo de solapamiento que sí presentaría el simétrico. Los estudios de simulación no son concluyentes cuando comparan el EPT con el simétrico, ya que mientras que en la simulación de Lumley and Levy<sup>48</sup> mostró superioridad el EPT, en la simulación de Figueiras et al<sup>41</sup> el EPT no mostró ser superior al método CCO simétrico.

El hecho de que los diseños CCO más utilizados para analizar la relación entre la contaminación atmosférica y la salud sean el simétrico y el EPT, así como la rápida adopción de estos dos modelos, indica que existe un interés por la correcta aplicación de esta metodología. También apuntan en esa dirección los periodos control más frecuentemente usados, ya que para el diseño simétrico lo más utilizado es dos controles 7 días antes y después del caso y para el EPT es periodos control todos los mismos días de la semana que el caso dentro del mismo mes. Así, estos dos planteamientos permiten evitar problemas de autocorrelación y controlar el efecto del día de la semana.

En los estudios que utilizan el diseño CCO para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud, la exposición que con más frecuencia se utiliza son los ingresos hospitalarios. El que se utilice más esta variable que la mortalidad podría ser, por un lado, porque la variable ingresos hospitalarios presenta un mayor número de eventos, con lo que se consigue una mayor potencia estadística y por otro lado porque existe un menor periodo de latencia desde la exposición hasta el evento para la variable ingreso hospitalario que para la variable mortalidad, por lo que así se facilita el análisis estadístico al tener que incluir menor número de retardos<sup>131</sup>. El tipo de contaminante que más frecuentemente se analiza con diseños CCO es el de las partículas atmosféricas, lo cual podría deberse a que tradicionalmente han sido los contaminantes más

estudiados y a que existe mayor disponibilidad de registros. El tipo de población sobre el que se realiza el estudio es en muy pocas ocasiones población enferma, estudiándose en la mayor parte de los casos población general. Esto podría deberse a la dificultad de obtener registros para una enfermedad específica<sup>105</sup>.

Aunque la aplicación de modelos de Poisson no paramétricos supuso un gran avance sobre los diseños anteriores, al permitir controlar de una forma más flexible las variables de confusión no medidas que cambian a lo largo del tiempo, los problemas detectados, tales como la dificultad para establecer los grados de libertad, parecen aumentar el interés por otras alternativas, como los CCO. Estos enfoques permiten controlar por diseño la influencia de la tendencia y la estacionalidad. Inicialmente estos diseños presentaban ciertos sesgos en los estimadores en determinadas condiciones muy específicas, que fueron superados con nuevos diseños de muestreo de los periodos de control, aunque sigue siendo necesario tomar una decisión respecto a cuál es el intervalo de tiempo más adecuado entre los periodos caso y los periodos control.

En principio podría pensarse que los diseños CCO son más sencillos de modelar y que tienen menos decisiones arbitrarias del investigador que los diseños de series temporales de Poisson con GAM (tipo de suavizadores, números de grados de libertad), pero se ha visto que los CCO también presentan arbitrariedades en la selección de los periodos de referencia o en el método de muestreo.

No existen características conocidas de los estudios que pre-disponga para usar un periodo control sobre otro, ya que los estudios de simulación no permiten sacar ninguna conclusión al respecto, dado su heterogeneidad de escenarios y resultados. Similarmente, en los estudios de simulación se ha trabajado sobre todo con partículas y no existe ningún estudio de simulación para valorar su comportamiento en exposiciones dis-

continuas (por ejemplo, día con elevados niveles de ozono) y aunque posiblemente desde el punto de vista teórico, en este tipo de exposiciones donde una elevada proporción de casos y controles toma el valor de cero los métodos de series temporales de Poisson podrían comportarse mejor que los CCO ya que las comparaciones se realizan en la misma persona y cuando el periodo caso y control tiene el mismo valor cuando se analiza con regresión logística condicional no aporta potencia estadística. Sin embargo tampoco se han realizado estudios de simulación para comprobar si esta suposición tiene alguna relevancia en la práctica.

Teóricamente, una de las grandes ventajas de los diseños CCO es que se pueden incluir datos individuales para poder estimar modificaciones de efecto, pero en la práctica, la mayoría de los estudios sobre relación entre contaminación atmosférica y salud mediante diseños CCO no analiza la modificación de efecto a nivel individual. Esto podría deberse a la falta de disponibilidad de datos a nivel individual<sup>105</sup>.

Por otro lado, gracias al diseño CCO, se tiene una mayor evidencia científica de la asociación a corto plazo entre contaminación atmosférica y salud, porque en ocasiones se realizaron reanálisis con la metodología CCO de datos que se habían analizado previamente con métodos de Poisson y se obtuvieron resultados similares<sup>127</sup>.

Desde el punto de vista del análisis estadístico se ha propuesto que se chequeen los modelos CCO que se utilizan<sup>33</sup>; en la práctica no hemos encontrado ningún estudio sobre la relación entre contaminación atmosférica y salud con diseño CCO que chequee los modelos. Por otra parte, no existen fórmulas para el cálculo del tamaño muestral (o del poder estadístico) en los diseños CCO y de hecho en un estudio<sup>86</sup> se aplica una simulación para calcular el límite inferior en el que se detectan efectos. Un posible riesgo de los diseños CCO es la realización de múltiples análisis con distintos diseños, y que solo se mues-

tren los más interesantes o llamativos<sup>38</sup>. Este problema se puede solventar en parte con un análisis de sensibilidad, en el que los autores muestren los resultados obtenidos con distintos métodos CCO, e incluso comparando los resultados con un modelo lineal generalizado con respuesta Poisson.

Entre las limitaciones de la presente revisión se debe tener en cuenta que a la hora de evaluar los artículos que utilizan la modificación de efecto con datos individuales, se han encontrado dificultades, ya que los autores usan diferentes terminologías, puesto que en ocasiones llaman modificación a lo que en realidad es una estratificación en subgrupos y algunos autores hablan de estratificación no quedando claro si utilizan unos modelos estadísticos distintos para cada grupo de sujetos de la variable de estratificación, o si introducen en el modelo un término de interacción para evaluar la modificación de efecto. Por otro lado, como cualquier revisión sistemática puede estar presente el sesgo de publicación.

Podríamos decir, como conclusión de este estudio, que el diseño CCO es una atractiva alternativa al diseño de análisis de series temporales de Poisson con GAM, aunque quizás todavía estemos aprendiendo sobre sus ventajas e inconvenientes. La utilización de diseños CCO para estudiar la relación entre la contaminación atmosférica y salud ha experimentado un gran auge, pero salvo contadas excepciones, no se le ha sacado todo el partido en términos de modificación de efecto.

## **5.2. Discusión de simulación**

Los resultados de este estudio de simulación muestran que los abordajes longitudinales aplicados a diseños CCO podrían ser útiles para analizar los efectos agudos de exposiciones ambientales. En concreto, el diseño fullsemisimétrico analizado con modelos GLMM aplicados a escenarios con magni-

tudes de efecto del contaminante similares a las descritas en la literatura<sup>132</sup>, proporciona una óptima cobertura del intervalo de confianza y una alta eficiencia estadística (muy superior a la de los diseños CCO analizados mediante regresión logística condicional). Sin embargo, cuando se aplica a escenarios con magnitudes mayores que los valores usuales, se evidencia una infraestimación del efecto y una disminución en la cobertura, posiblemente atribuible al efecto de la autocorrelación presente en la variable exposición.

La mayor ventaja de los diseños CCO con respecto a los de series temporales de Poisson es que no necesitan funciones variables en el tiempo para controlar el efecto de variables de confusión no medidas. El diseño CCO controla de modo automático (por diseño) cualquier variable de confusión (conocida o desconocida), lo cual evita el establecimiento de los grados de libertad o problemas de concurvidad. Batenson y Schwartz<sup>17</sup> comentan que hay que pagar un precio para que los estudios CCO analizados con regresión logística condicional permitan el control de la tendencia y la estacionalidad por diseño, así como para investigar a nivel individual los potenciales modificadores de efecto. Este precio es que la eficiencia relativa de los diseños CCO semisimétricos analizados con regresión logística condicional es solo de un 66% respecto a los de series temporales de Poisson<sup>17</sup>. En nuestras simulaciones –en las que ya se ha eliminado la infraestimación de los EE debido a la concurvidad– los diseños con series temporales de Poisson son hasta el doble de eficientes que los CCO analizados con regresión logística condicional. Sin embargo, los CCO analizados como datos longitudinales pueden ser incluso más eficientes que los de Poisson. Esto supondría que, al analizar los CCO como datos longitudinales, ya no sería necesario pagar el precio de la eficiencia para poder obtener los beneficios de los diseños CCO.

La principal limitación de los diseños CCO analizados mediante modelos lineales generalizados mixtos es la existencia de una sensibilidad del modelo a la autocorrelación presente en la variable del contaminante. El efecto de la autocorrelación sobre las estimaciones de los CCO analizados con RLC ha sido estudiado en profundidad en anteriores trabajos,<sup>14, 126</sup> pero aun se desconoce su efecto cuando son analizados como longitudinales. Nuestros datos apuntan a que los CCO longitudinales tienen una mayor sensibilidad a la autocorrelación que los CCO con RLC y que este efecto se incrementa cuanto mayor es la magnitud de efecto del contaminante. Para coeficientes inferiores a 0,003 este efecto parece ser pequeño, pero se incrementa de forma importante a partir de ese valor, dando como resultado bajas coberturas. Creemos que son necesarios nuevos estudios para identificar las técnicas de selección de controles más apropiadas para disminuir el efecto de la autocorrelación cuando se analizan los CCO como datos longitudinales, como ya se ha hecho en los diseños CCO analizados con regresión logística condicional<sup>14, 126</sup>.

La consideración de los estudios CCO con un abordaje longitudinal, y su análisis con modelos mixtos, presenta una ventaja adicional: el análisis multinivel, que permite el análisis conjunto de múltiples ciudades, eliminando la necesidad de la aplicación de metodologías de metaanálisis<sup>133</sup>, de análisis combinado (*pooled análisis*)<sup>134</sup> o de modelos normales jerárquicos de dos pasos (*two-stage hierarchical normal model*)<sup>7</sup>. En estos modelos multinivel, un nivel podría ser la ciudad y otro el individuo, y sería posible estudiar la heterogeneidad entre ciudades, al incluirla como efecto aleatorio. Ello permitiría valorar (1) el efecto de las relaciones dosis-respuestas global para el conjunto de las ciudades, (2) las formas de las posibles interacciones entre variables climatológicas y contaminantes, y (3) las interacciones entre características individuales con variables climatológicas y contaminantes para el conjunto de las ciudades. La aplicación de modelos mixtos también podría extenderse a

análisis geográficos, considerando zonas de ciudades como nivel intermedio de análisis, y valorar así las zonas con mayor riesgo.

Una vez controlado el efecto que ejerce la autocorrelación sobre las estimaciones de efectos muy elevados, los diseños CCO analizados como longitudinales podrían ser una muy buena alternativa a las series temporales de Poisson, ya que podrían aportar un importante conjunto de ventajas adicionales. Así, sería posible determinar de forma más concreta los efectos de los contaminantes y de sus relaciones dosis-respuesta según las características de las personas (p. ej. patología previa), y/o según localización geográfica (zonas concretas de las ciudades), todo ello con una óptima potencia estadística. Esto podría abrir la puerta a un nuevo tipo de recomendaciones en salud pública sobre los efectos en la salud de la contaminación atmosférica, orientados a grupos específicos de personas o a áreas concretas de las ciudades.

### **5.3. Discusión de la aplicación a Vigo**

Los resultados de nuestro estudio indican que la contaminación por partículas incrementa las llamadas telefónicas a servicios de emergencias por causas respiratorias, cardiovasculares o combinadas. Además, nuestros resultados sugieren que aumentos en las concentraciones de polen incrementan la demanda de servicios de urgencias vía telefónica para causas respiratorias.

El efecto de las partículas atmosféricas sobre las llamadas a urgencias que se ha encontrado en nuestro trabajo coincide con el de Mediana et al<sup>135</sup> en la ciudad de París, pero contrasta con el estudio de Hautemanière et al<sup>136</sup> en la ciudad de Rouen, en el que no se observó relación. En lo referente al SO<sub>2</sub>, en nuestro estudio no encontramos relación con las llamadas a urgencias, en contraste con los estudios de París<sup>135</sup> y

Rouen<sup>136</sup>. Una posible explicación a este hecho podría ser que los niveles de SO<sub>2</sub> en Vigo en el periodo de estudio son moderados, mientras que los niveles de humos negros son muy elevados, –incluso superan a los de Atenas, que es la ciudad con niveles más altos en el estudio APHEA (*Air Pollution and Health: a European Approach*)<sup>137</sup>.

Además, nuestros hallazgos sobre la relación entre partículas y morbilidad respiratoria o cardiovascular son análogos a los de numerosos estudios que relacionan la contaminación con la morbilidad medida a través de los ingresos hospitalarios<sup>138-140</sup>. En este sentido, nosotros creemos que la medida de la morbilidad a través de las llamadas a urgencias tiene algunas ventajas e inconvenientes respecto a los ingresos. Así, el evento (llamada *vs* ingreso) no depende de los criterios de ingreso de los centros, ni de la accesibilidad del paciente al hospital, y puede ser más sensible a los cambios fisiopatológicos que puede generar la contaminación. Por el contrario, existe mayor riesgo de mala clasificación en el diagnóstico, pero creemos que, al incluir grandes grupos de enfermedades (respiratoria, cardiovascular o ambas), este posible sesgo se minimiza.

Desde el punto de vista fisiológico, nuestros resultados son coherentes con los mecanismos biológicos que se han propuesto para explicar que las partículas aumentan las patologías respiratorias, a través de un aumento de mecanismos inflamatorios en el aparato respiratorio<sup>141</sup>. Estudios de laboratorio en humanos y en animales han mostrado que la contaminación atmosférica por partículas, y la contaminación por partículas diesel en particular, puede aumentar la inflamación alérgica e inducir el desarrollo de respuestas inmunes alérgicas debido a la liberación de mediadores de la respuesta alérgica e inflamatoria que inicia una cascada que puede culminar en la inflamación de las vías respiratorias, secreción de mucus en las vías respiratorias y contracción del músculo liso bronquial<sup>142</sup>. A lo largo del planeta se ha producido un incremento en la

incidencia de enfermedades respiratorias alérgicas, principalmente en áreas urbanas<sup>143</sup>. Las partículas diesel atmosféricas parecen presentar un mayor efecto inmunológico en presencia de alérgenos atmosféricos que en solitario<sup>144</sup>. En el caso de las patologías cardiovasculares no está totalmente establecido y se han propuesto varios mecanismos, como un aumento de la viscosidad del plasma sanguíneo<sup>145</sup>, un aumento de la frecuencia cardíaca<sup>146</sup>, alteraciones en la variabilidad del ritmo cardíaco<sup>147</sup>, o aumento de la coagulación inducido por partículas diesel<sup>148</sup>.

Podría pensarse que la magnitud de la asociación entre la contaminación atmosférica y los resultados en salud encontrados en nuestro estudio son muy pequeños con respecto a otros polucionantes como el tabaco, pero debe tenerse en cuenta que a éste último solo están expuestos los fumadores y en menor medida, los fumadores pasivos y, sin embargo, a la contaminación atmosférica se encuentra expuesta toda la población, por lo que los resultados globales de sus efectos pueden ser elevados.

En este estudio, los niveles de pólenes se asocian a enfermedad respiratoria medida como llamadas a servicios de emergencias. No hemos encontrado estudios previos con diseño CCO. Hasta el momento solo se ha publicado un estudio que analiza retrospectivamente las causas de las llamadas a urgencias, en el que se relaciona un aumento en el número de llamadas por síntomas relacionados con la polinosis en el periodo de estudio con un pico en la concentración de polen en esas fechas<sup>149</sup>. Existen diversos estudios que han encontrado relación entre niveles de polen y otras variables, como morbilidad respiratoria o admisiones hospitalarias por causas respiratorias en distintas zonas<sup>150</sup>. Pero en otros estudios no se observó relación entre el polen y las admisiones hospitalarias<sup>151, 152</sup>, lo que podría ser debido a las diferencias geográficas en los niveles de alérgenos o en la prevalencia de alergia<sup>153</sup>. Así, los prin-

cipales tipos de polen con capacidad alergénica en Vigo, utilizados en este estudio, pueden ser diferentes de los de otras ciudades. Este es el primer trabajo en el que se ha estudiado la interacción entre polen y contaminantes atmosféricos en relación con llamadas telefónicas a urgencias, pero no se ha encontrado una interacción significativa.

El mecanismo de acción por el cual el polen ejerce efectos a nivel del árbol respiratorio parece ser mediante sensibilización de tipo alérgico por las proteínas presentes en el polen, lo cual provoca una reacción inflamatoria mediada por inmunoglobulina E, con una serie de cambios fisiológicos como incremento de eosinófilos y neutrófilos, óxido nítrico exhalado o el número de células en el lavado broncoalveolar, que finalmente desemboca en cuadros clínicos del árbol respiratorio<sup>150, 154</sup>.

Varios autores han encontrado que la prevalencia de enfermedad del polen (polinosis) es el doble en zonas urbanas con respecto a las zonas rurales, aunque los niveles de polen sean superiores en las áreas rurales<sup>155</sup>. También se ha observado un aumento de la incidencia de polinosis, lo que ha sido atribuido por algunos autores a las partículas diesel en la atmósfera<sup>156, 157</sup>. El principal mecanismo que podría explicar estas observaciones es el hallazgo de que varias especies de polen se pueden adsorber a partículas diesel, lo cual facilitaría su entrada en el árbol bronquial<sup>158</sup>.

Una limitación de este estudio es que, dado su diseño ecológico, la relación causa-efecto se debe interpretar con precaución. La limitación de usar captadores fijos para medir la exposición de toda la población ha sido frecuentemente discutida<sup>159</sup>. Podría pensarse que no se ha controlado por variables importantes (como hábito tabáquico o enfermedades crónicas), pero no hay razón para creer que muchos de los factores de riesgo individuales, como la presencia de enfermedades crónicas o ser fumador, estén correlacionados con los cambios

diarios en los niveles de contaminación atmosférica y, por lo tanto, no pueden ser factores de confusión en este estudio, puesto que un factor de confusión debe estar correlacionado tanto con la causa como con el efecto.

El diseño CCO tiene varias ventajas sobre las series temporales de Poisson, como por ejemplo controlar muchos factores de confusión por diseño, en vez de por modelado estadístico. Sin embargo, una desventaja de los métodos CCO respecto a los de Poisson es que son ligeramente más ineficientes, por lo que producen intervalos de confianza de los OR algo más amplios que los de las series temporales de Poisson, implicando un menor poder estadístico<sup>41</sup>. Sin embargo, en general, el diseño CCO y el de series temporales de Poisson con modelos aditivos generalizados han producido resultados casi idénticos<sup>112, 127, 128</sup>, por lo que no se cree que los resultados dependan del tipo de diseño empleado. Es más, el hecho de que se encuentre asociación entre contaminación atmosférica y llamadas a urgencias en este trabajo, a pesar de su menor poder estadístico respecto a los modelos de series temporales de Poisson, refuerza los estudios previos realizados con otras metodologías.

En conclusión, este estudio demuestra un aumento en el riesgo de requerir servicio urgente por causas cardíacas o respiratorias mediante llamadas telefónicas al aumentar los niveles de partículas atmosféricas, lo que refuerza la importancia de controlar estos contaminantes. También se ha encontrado relación entre niveles de polen y llamadas por causas respiratorias, aunque no se ha hallado interacción entre polen y contaminación; quizás se requieran estudios con mayor tamaño muestral para analizar esta interacción.



## **6-CONCLUSIONES:**

### **6.1) De la revisión de diseños CCO**

1. Los estudios de simulación muestran que los diseños CCO bidireccionales son adecuados para analizar la relación entre contaminación atmosférica y salud
2. En la literatura se observa un incremento de la aplicación de los diseños CCO al estudio de la asociación entre contaminación atmosférica y morbi/mortalidad.
3. Los diseños CCO más usados para estudiar la relación entre contaminación atmosférica y salud son los bidireccionales de tipo simétrico y EPT, analizados mediante regresión logística condicional.

### **6.2) De la comparación de los diferentes diseños CCO entre sí y con diseños de series temporales**

1. El diseño semisimétrico analizado aplicando modelos longitudinales (modelos lineales generalizados mixtos) proporciona buenas coberturas y elevado poder estadístico para magnitudes de efecto de la contaminación atmosférica cercanas a las reales.
2. Los diseños CCO son, en general, menos eficientes que los de series temporales de Poisson.
3. Los diseños CCO analizados con métodos longitudinales, al aumentar la autocorrelación en la va-

riable exposición, empeoran el sesgo en el resultado.

4. Los diseños CCO analizados con métodos longitudinales muestran un comportamiento inestable, con aumento de sesgo, con respecto a los analizados mediante regresión logística condicional, cuando la magnitud del efecto de la contaminación atmosférica se aleja de valores cercanos a los reales.

### **6.3) De la aplicación de diseños CCO a datos reales de contaminación atmosférica, polen y salud en la ciudad de Vigo**

1. La contaminación atmosférica por partículas aumenta las llamadas a servicios de urgencias por causas cardíacas y respiratorias o ambas combinadas
2. Incrementos en los niveles de polen aumentan las llamadas a urgencias por causas respiratorias
3. No se encuentra interacción entre pólenes y contaminantes atmosféricos.

## **7-ANEXO: ARTÍCULOS PUBLICADOS**



**7.1) Environmental Health Perspectives 2010; doi:  
10.1289 / ehp. 0901485.**

Carracedo-Martínez E, Taracido M, Tobias A, Saez M, Figueiras A. Case-Crossover Analysis of Air Pollution Health Effects: a Systematic Review of Methodology and Application.



**ehp**

ehponline.org

**ENVIRONMENTAL  
HEALTH  
PERSPECTIVES**

**Case-Crossover Analysis of Air Pollution Health Effects:  
a Systematic Review of Methodology and Application**

**Eduardo Carracedo-Martínez, Margarita Taracido,  
Aurelio Tobias, Marc Saez, and Adolfo Figueiras**

**doi: 10.1289/ehp.0901485 (available at <http://dx.doi.org/>)  
Online 31 March 2010**



**NIEHS**  
National Institute of  
Environmental Health Sciences

National Institutes of Health  
U.S. Department of Health and Human Services

## Case-Crossover Analysis of Air Pollution Health Effects: a Systematic Review of Methodology and Application

Eduardo Carracedo-Martínez,<sup>1,2</sup> Margarita Taracido,<sup>1,3</sup> Aurelio Tobias,<sup>4</sup> Marc Saez,<sup>3,5</sup> Adolfo Figueiras<sup>1,3</sup>

1. Department of Preventive Medicine and Public Health. University of Santiago de Compostela . Santiago de Compostela. Spain.
2. Santiago of Compostela Health Area. Galician Health Service (*Servizo Galego de Saúde - SERGAS*). Santiago de Compostela. Spain.
3. Consortium for Biomedical Research in Epidemiology & Public Health (*CIBER en Epidemiología y Salud Pública - CIBERESP*), Spain.
4. Institute of Environmental Analysis and Water Research (*Instituto de Diagnóstico Ambiental y estudios del Agua - IDAEA*). Spanish Scientific Research Council (*Consejo Superior de Investigaciones Científicas - CSIC*). Barcelona, Spain
5. Research Group on Statistics, Applied Economics and Health (*Grup de Recerca en Estadística, Economia Aplicada i Salut - GRECS*), University of Girona. Girona. Spain.

### Name and address for correspondence and reprint requests

Adolfo Figueiras  
Dto. de Medicina Preventiva y Salud Pública.  
Facultad de Medicina  
c/ San Francisco s/n  
15786 Santiago de Compostela (A Coruña) SPAIN

E-mail: [adolfo.figueiras@usc.es](mailto:adolfo.figueiras@usc.es)  
Phone: (+34) 981 581 237 / (+34) 981 951192  
Fax: (+34) 981 572 282

**Running title:** Case-Crossover in Air Pollution Effects: a Review

**Key words:** Air Pollution, Crossover studies, Epidemiologic Methods, Health, Systematic Review.

**Abbreviations:**

CCO: Case-crossover.

GAM: Generalized additive models

**Acknowledgments:**

This study was supported by grant CIBERESP-MET-007 from the Consortium for Biomedical Research in Epidemiology & Public Health (*CIBER en Epidemiología y Salud Pública - CIBERESP*), Spain. Aurelio Tobias was funded by Project PI080354 (Fondo de Investigaciones Sanitarias - FIS) of the Subdirectorate-General for Research Evaluation & Development and by Project 2009301008 (Consejo Superior de Investigaciones Científicas - CSIC)<sup>1</sup>. We should like to thank Michael Benedict for his help with the English version of this paper. None of the authors has any competing financial interests.

**Abstract:**

Objective:

This paper sought to conduct a systematic review of case-crossover (CCO) designs used to study the relationship between air pollution and morbidity and mortality, from the standpoint of methodology and of application.

Data Sources:

A search was made of the MEDLINE and EMBASE databases.

Data Extraction:

Papers were classified as methodologic or applied. From the latter, the following information was extracted: author; study location; year; type of population (general or patients); dependent variable(s); independent variable(s); type of CCO design; and whether or not effect modification was analyzed for variables at the individual level.

Data Synthesis:

The review covered 101 papers that fulfilled the inclusion criteria. Of these, 24 addressed methodologic aspects and the remainder involved the design's application. In the methodologic papers, the designs which yielded the best results in simulation were symmetric bidirectional CCO and time-stratified CCO. Furthermore, an increase across time was observable in the use of certain CCO designs, mainly symmetric bidirectional and time-stratified CCO. The dependent variables most frequently analyzed were those relating to hospital morbidity, while the pollutants most studied were those linked to particulate matter.

14.3% of CCO-application papers studied effect modification for variables at the individual level.

Conclusions:

The use of CCO designs has undergone considerable growth, with the most widely used designs being those that yield better results in simulation studies, namely, symmetric bidirectional and time-stratified CCO. Yet the advantages of CCO as a method of analysis of variables at the individual level are put to little use.

## INTRODUCTION

The first epidemiologic studies on the impact of air pollution on health were undertaken as a consequence of the extreme pollution episodes that took place in the decades from 1930 to 1960. The association between air pollution and certain health variables becomes obvious on glancing at a simple graphic representation or comparing mortality rates for these same periods in the past (Firket 1930; Logan 1952). Since that time, air pollution levels have fallen substantially, so that, to evaluate their effects on health, longer time series are required; to this end, the 1970s saw dynamic regression models starting to be applied. Basically, these consist of regression models in which the relationship between the dependent and explanatory variables, rather than being expected to occur simultaneously, can be distributed over time. Moreover, residual autocorrelation is controlled for, with the error being specified by means of Autoregressive Integrated Moving Average (ARIMA) models. The problem with these types of models is that they assume that the dependent variable is distributed normally, a distribution that is extremely rare in the daily outcome count variables of morbidity and mortality events (Saez et al. 1999).

The early 1990s saw the appearance of linear models based on Poisson regression, in which a parametric approach is used to control for trend and seasonality because the event counts more typically have a Poisson distribution. These models use the variable "time" and its transforms, quadratic and sinusoidal functions (sine or cosine) of different frequency and amplitude, to control for the effect on the dependent variable (mortality or morbidity) of unmeasured variables that may vary seasonally, such as in pollen concentration, meteorological variables and influenza outbreaks, or that may have a trend, such as changes in a city's population distribution, in order to ascertain the effect had by such variables on the

dependent variable (Saez et al. 1999). Insofar as changes in a city's population pyramid are concerned, it should be noted that Poisson regression is particularly useful only when cases, rather than the entire population, can be enumerated, since this form of regression analysis does not require knowledge of the denominator as long as population flux is in steady state.

Nevertheless, this approach poses the problem that, if any of these unmeasured variables follows a cyclical component of varying frequency and width (as might be the case of pollen concentration or influenza), the parametric functions of time or of its sinusoidal transforms cannot be easily "adapted" to such changes. These limitations led it to be displaced by nonparametric Poisson regression with the application of generalized additive models (GAM) that use nonparametric functions of the variable, "time" (Kelsall et al. 1997), which adapt flexibly to the irregular cyclic components of unmeasured variables and allow for flexible fits for important variables, such as temperature, barometric pressure, relative humidity, etc., thereby reducing any potential confounding due to these factors.

One difficulty with this method is that the number of degrees of freedom of the smoothed nonparametric function must be specified by the researcher, with discrepancies arising as to the most appropriate way of calculating this. As inappropriate determination of the correct number of degrees of freedom can lead to bias in the estimates of nonparametric Poisson designs, interest focused on a design that purported to control time trends *per se*, namely, the case-crossover design (CCO).

The CCO design was proposed by Maclure (1991) to identify risk factors of acute events and is characterized by the fact that each subject serves as his/her own control, albeit by assessing referent exposure at a point in time prior to the event. By virtue of its design, this type of

study controls for the influence of confounding variables that remain constant in the subject at both dates, that of the event and that of the referent time, such as gender, smoking history, occupational history and genetics. This design was initially used to assess the effect of exposures measured at an individual level (telephone calls and traffic accidents, physical or sexual activity, and acute myocardial infarction) and was not applicable to exposures having a time trend, e.g., air pollution, the reason being, that if exposure control dates before the effect are selected and there is a trend, this necessarily implies that prior exposures are systematically higher or lower than at the date of the effect. To circumvent this bias, Navidi (1998) developed a variant of this design, i.e., bidirectional CCO, which is conceptually characterized by having control time periods before and after the event, something that made it possible to control for the effect of long-term trend and seasonality on the variable, "exposure". This design was already appropriate for ecologic-type exposures, such as air pollution, since the existence of registries means that the values of such exposure can be ascertained even after the event, and, in addition, pollution values are not affected by the presence of prior morbidity and mortality events. In the CCO design, the referent time periods represent the counterfactual exposure experience of the individual, had he/she not become a case, and seeing as, in air pollution, pre- and post-event exposure values are independent of the hazard period exposure, those which are post-event referent can be appropriate. One advantage of CCO design over Poisson regression is its ability to assess potential effect modification (i.e., statistical interaction) at the individual rather than at the group level. As an alternative analytic methodology to Poisson regression, the CCO approach allows for direct modeling of interaction terms, rather than depending on multiple subgroup analyses.

This paper sought to conduct a systematic review of the CCO design used to study the relationship between air pollution and morbidity and mortality, from both a methodologic and an applied standpoint.

## METHODS

A bibliographic search was conducted in January 2009, covering the MEDLINE and EMBASE databases and using the key words, case-crossover\* and pollution\*. The time window used was the preceding 20 years. From among the total obtained, we selected a series of papers based on the language used and the topic addressed in the title and/or Abstract, thereby eliminating all that were not written in English or Spanish and did not address the subject targeted for study. All the papers chosen in this way were reviewed, and further papers selected from among those cited in the respective references.

The papers retrieved were classified into two major groups, namely: (1) methodology papers, in which new CCO designs were described or existing designs compared, generally by means of simulation studies; and (2) application papers, in which some CCO design was applied for the purpose of analyzing the relationship between air pollution and health.

The methodology papers were, in turn, classified into those that conducted simulation studies to compare CCO designs with one another or with other designs, such as Poisson time-series, and those that described theoretical aspects pertaining to CCO design.

From the application papers, the following data were obtained to compare them to one another: author; study location; year; dependent variable(s); independent variable(s); and type of CCO design, i.e., unidirectional, symmetric, semi-symmetric or time-stratified. The modeling of interaction terms between pollutants and subjects' individual characteristics was also assessed, to record whether or not the papers had analyzed effect modification. For this purpose, only interactions with subjects' individual variables were considered, with the

following being deemed ineligible: studies only reporting interactions between pollutants and pollen, meteorological variables, or other pollutants; and stratified analyses in which different models were constructed for each subgroup and no interaction term was included in a single model.

## RESULTS

The results obtained in the bibliographic search are schematically depicted in Figure 1.

(Figure 1)

Of the total of 101 papers retrieved as a result of the bibliographic search, 24 addressed methodologic aspects of CCO design (Bateson and Schwartz 1999, 2001; Figueiras et al. 2001; Fung et al. 2003; Hajat 2003; Jaakkola 2003; Janes et al. 2005a, 2005b; Kunzli and Schindler 2005a, 2005b; Lee et al. 2000; Levy et al. 2001a; Lu et al. 2008; Lu and Zeger 2007; Lumley and Levy 2000; Maclure 1991; Maclure and Mittleman 2008; Marshall and Jackson 1993; Mittleman 2005, Navidi 1998; Navidi and Winhandl 2002; Navidi et al. 1999; Peters et al. 2006; Sheppard et al. 2001), while the remaining papers applied CCO designs to study the relationship between different air pollutants and different outcome variables in terms of human health (Barnett 2005; Bateson and Schwartz 2004; Boutin-Forzano et al. 2004; Carracedo-Martinez et al. 2008; Chang et al. 2005; Checkoway et al. 2000; Chen et al. 2007; D'ippoliti et al. 2003; Filleul et al. 2004; Forastiere et al. 2005, 2007; Henrotin et al. 2007; Hinwood et al. 2006; Jalaludin et al. 2008; Johnston et al. 2007; Kan and Chen 2003;

Karr et al. 2006; Kim et al. 2007; Kwon et al. 2001; Laurent et al. 2008; Lee and Schwartz 1999; Lee et al. 2007, 2008; Levy et al. 2001b; Lin et al. 2002, 2003, 2005; Ljungman et al. 2008; Luginaah et al. 2005; Maynard et al. 2007; Medina-Ramon et al. 2006; Neas et al. 1999; Peel et al. 2007; Perez et al. 2008; Peters et al. 2001, 2005; Pope et al. 2006, 2008; Rich et al. 2004, 2005, 2006a, 2006b; Romieu et al. 2004; Ruidavets et al. 2005; Schwartz 2004a, 2004b, 2005; Segala et al. 2008; Son et al. 2008; Stafoggia et al. 2008; Sullivan et al. 2003, 2005; Sunyer and Basagana 2001; Sunyer et al. 2000, 2002; Symons et al. 2006; Tecer et al. 2008; Tsai et al. 2003a, 2003b, 2006a, 2006b; Villeneuve et al. 2006, 2007; Wellenius et al. 2005a, 2005b, 2006; Xu et al. 2008; Yang 2008; Yang and Chen 2007; Yang et al. 2003, 2004a, 2004b, 2006, 2007; Zanobetti and Schwartz 2005; Zeka et al. 2005, 2006).

### **Case-crossover design**

Of the 24 papers that addressed CCO design: 9 conducted simulation studies; 1 paper compared the estimators obtained by different methods applied to real data; and the remainder (14) only analyzed theoretical aspects of CCO design, without performing simulations or comparisons.

Our review of methodologic aspects revealed a trend in CCO bidirectional designs with regard to the choice of control periods (see Table 1).

(Table 1)

The main bidirectional CCO designs, in chronological order of appearance, were as follows: full-stratum CCO, one of the designs initially proposed by Navidi (1998), in which all the days of the series except that of the event are taken as controls; random matched pair CCO, which was also proposed by Navidi (1998), and consists of taking any day of the series before or after the event, at random; symmetric CCO, proposed by Bateson and Schwartz (1999), which consists of taking 2 days of the series as control, one before and one after the event, equidistant from the latter; time-stratified CCO, a design proposed by Lumley and Levy (2000), consisting of taking as control one or more days falling within the same time stratum as that in which the event occurred, e.g., if "month" is established as the time stratum and the event occurs on, say, a Monday, then this is compared with all the Mondays in that same month; semi-symmetric CCO, proposed by Navidi and Weinhandl (2002), which consists of randomly choosing as control only one of the 2 controls used by symmetric CCO.

Simulation studies compare model predictions based on repeated samples drawn from a dataset that represents the entire population of interest and for which true values are known because they were determined by the investigator when the dataset was created in order to represent a scenario of interest. Simulation studies compare the performance of different CCO designs (process or manner of functioning or operating) based on indicators such as efficiency (with relative increases in variance or standard error indicating less efficiency), bias (the difference between the model-estimated value and the true value of the parameter being estimated), and coverage (the proportion of replicate estimates that include the true value of the coefficient within their 95% confidence intervals). Simulation studies yielded the following results, in chronological order (see Table 2 for more details):

- Navidi (1998), in a simulation scenario based on real PM<sub>10</sub> data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend, conducted a simulation in which unidirectional was compared with bidirectional full-stratum CCO design, and observed that the bidirectional design resulted in less bias.
- Bateson and Schwartz (1999), in a simulation scenario based on real PM<sub>10</sub> data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend and seasonality (short-term trends), conducted a simulation to compare Poisson time-series regression design against different CCO designs, such as unidirectional, full-stratum, random matched pair, and symmetric, with control periods ranging from 1 to 4 weeks before and after the event. The results of this simulation showed that, while the symmetric CCO design was the one that performed best in terms of bias, it nevertheless displayed a lower efficiency than that of Poisson time-series designs (its efficiency being 66% of the Poisson time-series).
- Lumley and Levy (2000) compared symmetric with time-stratified CCO designs in a simulation scenario based on real black smoke data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend and seasonality, and observed a better performance with the time-stratified CCO design, though both displayed a small degree of bias.
- Lee et al (2000), in a simulation scenario based on real mortality data and an unmeasured confounding variable that generated seasonality, compared unidirectional design with symmetric CCO, and found that the latter performed better, though bias increased when the number of seasonality waves was incomplete.
- Bateson and Schwartz (2001) set out to study the best distance at which to use control days in symmetric CCO design, in a scenario with trend and seasonality, in which all the variables were simulated. They studied control days ranging from one to 28 days

pre- and post-event, and observed that confounding was minimized when the spacing was equal to the period of exposure.

- Levy et al (2001a), in a simulation scenario based on real black smoke data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend but no seasonality, compared unidirectional with symmetric design, using different numbers of control periods and at different intervals from the event period, as well as the influence of autocorrelation (correlation of a temporal series variable with its own previous or posterior values) between control periods and overlapping (bias resulting from the use of incorrect referent periods), and concluded that the symmetric CCO design performed better, with less bias when the distance of the control periods vis-à-vis the event was 7 days, and when autocorrelation and overlapping were avoided.
- Navidi and Weinhandl (2002) conducted a simulation in a scenario based on real PM<sub>10</sub> data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend and seasonality, in which they compared Poisson time-series design to the following CCO designs: symmetric with control periods separated by 7 days with respect to the case date; semi-symmetric with the control period separated by 7 days with respect to the case date; random matched pair; and full-stratum. They concluded that the semi-symmetric design performed best.
- Fung and Krewski (2003) conducted a simulation in a simulation scenario based on real PM<sub>2.5</sub> data and an unmeasured confounding variable that generated long-term trend and seasonality, in which they compared Poisson time-series design against the following CCO designs: unidirectional; symmetric; and semi-symmetric. They concluded that, while the symmetric design displayed a better performance in terms of bias than did the other designs studied, it was nonetheless similar to that of the Poisson

time-series design, with this last-mentioned design showing a better coverage and statistical power, thanks to its greater efficiency.

- Figueiras et al (2005), in a simulation study in a simulation scenario based on real  $PM_{10}$  data and an unmeasured confounding variable that could generate long-term trend and seasonality, compared the Poisson time-series design with a number of CCO designs, including symmetric, semi-symmetric, time-stratified, full symmetric (14 control periods pre- and post-event) analyzed by longitudinal designs, and full semi-symmetric (7 control periods pre- and post-event) analyzed by longitudinal designs, and reported that the last-mentioned displayed the least bias together with the best coverage and statistical power. Nevertheless, it is a design that proves unstable when the beta value (strength of association between the pollutant and the event) varies with respect to the usual values. Although semi-symmetric CCO displayed fewer biases than did symmetric or time-stratified CCO (both of which yielded similar results), it suffered from the drawback of having a lower statistical power.

Insofar as all these simulation studies are concerned, it is particularly interesting to note that three of them (Bateson and Schwartz 1999; Navidi and Weinhandl 2002; Figueiras et al. 2005) generated data for simulations using the same equations to determine trend and seasonality, before going on to use different real pollution data, so that comparable scenarios were investigated by each set of investigators.

Peters et al. (2006) conducted a comparison study, which consisted of analyzing a real database by means of a CCO and an alternative design, and then comparing the result, and observed that the time-stratified CCO design yielded similar results and conclusions to the Poisson time-series design and Cox regression analysis.

### **Study of the relationship between pollution and health, using CCO designs**

CCO designs are being increasingly applied to the task of analyzing the relationship between air pollution and its short-term effects on health (see Figure 2). Table 3, 4 and 5 provide a detailed description of studies published to date.

The papers published by Lee et al. (1999) and Neas et al. (1999) were the first studies to report the relationship between air pollution and mortality, using a CCO design. These studies performed a re-analysis of the effects of air pollution and mortality in the cities of Philadelphia and Seoul, respectively, obtaining a relationship that proved statistically significant. These results are similar to those previously obtained with the Poisson time-series design and thus go to strengthen the relationship of causality, inasmuch as the same relationship was observed when different statistical methods were applied.

Analysis of which CCO designs were most commonly used in the papers published showed that 7.7% of these were unidirectional and the remainder bidirectional. The most frequently used bidirectional designs were symmetric (42.2% of occasions) and time-stratified (48.9% of occasions). The semi-symmetric bidirectional design was used by only 1 study. Figure 2 depicts the time trend in the use of the different CCO designs. It should be noted that, though unidirectional designs were used in the initial period, they were gradually discarded. Most of the published studies used a one-day control period but in 6 papers a one-hour control period was used.

Table 3, 4 and 5 show the number of control days and the interval separating them from the event date, as used by the respective CCO-application studies. The unidirectional design was used by taking day 7 before the case as the control day on 2 occasions, and other different schemes on only one occasion. The symmetric CCO design was used, by deeming the control days to be: day 7 pre- and post-case on 23 occasions; days 7 and 14 pre- and post-case on 6 occasions; day 14 pre- and post-case on 4 occasions; days 7,14 and 21 pre- and post-case on 3 occasions; days 7 to 14 pre- and post-case on 2 occasions; and other different alternatives on only one occasion. The time-stratified design was used, by deeming the control day to be the same days of the week as the case, within the same month, on 33 occasions, all the days of the same month as and having an equal temperature to that of the case date on 3 occasions, and various other schemes on only one occasion.

The dependent variables studied were mortality-related in 21 cases and morbidity-related in the remainder, specifically: hospital admissions on 35 occasions; hospital emergencies on 7 occasions; episodes of arrhythmias recorded in pacemakers on 5 occasions; telephone calls to medical emergencies on 2 occasions; and others based on disease-specific registers, such as stroke (1 occasion), cardiac arrest (2 occasions), and ischemic heart disease (3 occasions).

In 76 papers, the air pollutant analyzed was particulate level, mostly measured as  $PM_{10}$  (58 occasions), followed -in descending order- by  $PM_{2.5}$  (22 occasions), black smoke (11 occasions), haze coefficient (4 occasions), total suspended particulate matter (3 occasions), sulfate particles (1 occasion) and  $PM_7$  (1 occasion). Insofar as gaseous air pollutants were concerned,  $SO_2$  was used on 45,  $NO_2$  on 48,  $O_3$  on 44, and CO on 39 occasions, while Ox, Nox and NO were analyzed on only one occasion.

Finally, as a last result that can be seen in tables 3, 4 and 5, in most cases the general population was studied. Patients were studied in only 8 studies, namely, cardiac pacemaker carriers in 4, COPD patients in 2, and asthma and heart failure patients in 1 study each.

Of all the papers that addressed application of CCO designs, 11 (14.3%) were found to have made use of analysis of effect modification of variables at the individual level.

#### **Common steps and requirements for CCO study designs**

Taking papers on CCO design methodology and application into account, it will be seen that the procedures followed when it comes to conducting a study into the relationship between air pollution and health are implemented according to the steps outlined in the Appendix.

In brief, CCO studies begin by confirming that data meet a series of necessary requisites, and end with a sensitivity analysis, after passing through a series of intermediate steps that include the transformation of the database into a matrix with CCO structure.

## DISCUSSION

This is the first systematic review to cover the application of case-crossover designs to the study of the health effects of air pollution. Use of CCO designs has risen steeply in recent years and from 2003 in particular, reaching a peak in 2006. Most of the new CCO designs that gradually appeared were based on simulation studies, which in many cases neither relied on the same scenarios nor, moreover, assessed performance for variables with special characteristics, e.g., discontinuous variables. The majority of application studies have tended to study the effect of particulates on morbidity, yet few studies have taken advantage of the strength of CCO designs to assess potential effect modifications with individual variables.

### **CCO versus Poisson:**

The increase in the use of CCO design appears to coincide with a crisis in the use of Poisson regression models with GAM owing to the problems associated with these, i.e., as far back as 2002, it was discovered that the most frequently used statistical packages gave rise to unstable estimators due to inadequate convergence criteria (Dominici et al. 2002), and that they could underestimate standard errors due to the presence of concavity in the data (Ramsay et al. 2003). In part, the CCO design represents a solution to the problems posed by GAM methods but, before it can become generalized, a period of time is required. For instance, there was no marked increase in the use of these designs until some years after the discovery of GAM-related problems, when a peak in use was registered with a time period of 2 years dating from the discovery of the problems of concavity (analog to collinearity for non-linear

relationships). Currently, other (e.g., geographic) methods are also being used to analyze the link between air pollution and health (Zeger et al. 2008).

**Different CCO designs and their evolution:**

An ongoing effort to try and perfect the CCO design can be seen, dating from the initial unidirectional design up to the bidirectional designs with their subtypes. Successive simulation studies have focused on studying the designs that yielded the best results in previous simulations. Symmetric bidirectional CCO and time-stratified CCO are the designs that have most often proved to be best in different simulations. In contrast, the semi-symmetric design has been observed to yield contradictory results, i.e., whilst it has proved better than the symmetric design in some simulation studies, in others the result has been the opposite (Fung et al. 2003), something that could be due to differences in the simulation scenario. One aspect on which there is consistency, however, is that the statistical efficiency of semi-symmetric CCO is low compared to that of the symmetric CCO or time-stratified CCO methods.

The rapid adoption of symmetric and time-stratified CCO designs is noteworthy, in that these began to be applied in the very same year in which their methodology was first proposed in the scientific literature. In contrast, the entry into use of the semi-symmetric CCO design took far longer, since it was first proposed in 2002, yet the first paper in which it was used to analyze the relationship between air pollution and health was only published in 2004.

One possible explanation for the fact that different designs are used in practice is that they were discovered at different points in time, i.e., unidirectional were described before bidirectional methods, and within bidirectional methods, symmetric was described before

time-stratified CCO. Unidirectional -as opposed to bidirectional- methods are being less and less frequently used with time because they evince important disadvantages, such as poor control of trends. Of the three bidirectional methods, semisymmetric is very little used owing to its negligible statistical power. Symmetric and time-stratified designs enjoy a similar percentage of use, with a trend towards greater use of time-stratified designs, possibly because, from a theoretical point of view, they would solve the "overlap bias" that symmetric designs would otherwise display. Yet, simulation studies are not conclusive when it comes to comparing time-stratified against symmetric designs, e.g., whereas Lumley and Levy (2000)'s simulation reported the time-stratified method as being superior, Figueiras et al. (2005)'s simulation failed to show that time-stratified was better than symmetric CCO.

The fact that the CCO designs most used to analyze the relationship between air pollution and health are symmetric and time-stratified, plus the rapid adoption of these same two models (they began to be used in the same year as they were proposed in the literature), together indicate that there is an interest in the correct application of this methodology. Pointing in this same direction are the control periods most frequently used, in that the most used schemes are: for the symmetric design, two controls, 7 days pre- and post-case; and for the time-stratified design, control periods consisting of all the same days of the week as the case within the same month. These two approaches thus make it possible for problems of autocorrelation to be prevented, and the effect of day of the week to be controlled for.

#### **Interpretation of application studies**

In studies that use the CCO design to analyze the relationship between air pollution and health, the most frequently used exposure is that of "hospital admissions". The greater use of "hospital admissions" over "mortality" might be due to the fact that, on the one hand, the

"hospital admission" variable entails a greater number of events, thereby affording greater statistical power, and that, on the other hand, the time period from exposure until the event is shorter for the "hospital admission" than the "mortality" variable, thereby calling for the inclusion of a lower number of lags and so facilitating statistical analysis (Andrews et al. 1985). The type of pollutant most frequently analyzed with CCO designs are airborne particulates, possibly because traditionally these have been the most widely studied pollutants and because the relevant records are more readily available. In terms of type of population, these studies seldom target the diseased population but focus instead on the general population. This could be owing to the difficulty of obtaining records for a specific diseased population (Filleul et al. 2004).

**Lessons learned and new challenges:**

Although application of nonparametric Poisson models amounted to a great advance over earlier designs, on enabling more flexible control of unmeasured confounding variables that change over time, the problems detected, such as the difficulty in setting the number of degrees of freedom, seem to have heightened interest in other alternatives, such as CCO. These approaches make it possible to control for the influence of trend and seasonality by design. Initially these designs resulted in certain biases in the estimators under certain very specific conditions, which were superseded by new control period sampling designs, though a decision must still be taken as to precisely what the most appropriate time interval between case and control periods should be.

In principle, it might be thought that CCO designs are easier to model and involve fewer arbitrary decisions for the researcher than do Poisson time series designs with GAM (type of

smoother, number of degrees of freedom) yet CCO designs have also been seen to entail arbitrariness in the selection of reference periods or sampling method.

There are no known study characteristics that would favor using one referent period over another, since the heterogeneity of the simulation studies in terms of their scenarios and results renders it impossible for any conclusion to be drawn in this regard. Likewise, simulation studies have tended to concentrate on particulate matter and there is no simulation study to assess the latter's behavior in discontinuous exposures (e.g., a high ozone day). In this type of exposure where a high proportion of cases and controls assume a value of zero, Poisson time series might, from a theoretical point of view, possibly perform better than CCO methods, since the comparisons are made in the same person and when the case and control periods have the same value, afford no statistical power when analyzed with conditional logistic regression. However, we are not aware of any simulation studies that have been conducted to test whether this assumption has any relevance in practice.

Theoretically, one of the great advantages of CCO designs is that individual data can be included so as to be able to estimate effect modifications, but in practice most CCO-based studies on the relationship between air pollution and health do not analyze effect modification at the individual level. The scant use made of the advantage entailed in being able to analyze effect modification at the individual level might be due to the lack of availability of data at this level (Filleul et al. 2004).

Furthermore, thanks to the CCO design we have fuller scientific evidence of the short-term association between air pollution and health, because at times reanalyses using CCO

methodology have been run on data previously analyzed with Poisson methods, and similar results have been obtained (Lee et al. 1999)

One possible challenge is the application of mixed models to the analysis of CCO designs, something that, on the one hand, could furnish greater statistical power, and on the other, could extend CCO designs to spatial-temporal models. Figueiras et al. (2005) attempted to apply longitudinal models to CCO designs but observed that, in the presence of autocorrelation, estimates might be biased. New approaches in this field could solve these problems.

From the standpoint of statistical analysis, it has been proposed that the CCO models used should be checked to see if assumptions for utilizing CCO methodology were satisfied, via a series of diagnostic tools such as plotting the data ( Lu et al. 2008). In practice, however, we have detected no CCO-designed study on the relationship between air pollution and health which checks the models. Furthermore there are no formulae for calculating sample size (or statistical power) in CCO designs and, indeed, one study (Symons et al. 2006) applies a simulation to calculate the lower bound of detectable effects. A possible risk of CCO designs lies in "model shopping", whereby multiple analysis are performed using different designs, and only the most interesting are then shown (Mittleman 2005). This problem can be solved, in part, by means of a sensitivity analysis, in which the authors show the results obtained with different CCO methods, and even compare the results against a generalized linear model with a Poisson response.

**Limitations of our review:**

Among the limitations of this review, when it comes to assessing the papers which use effect modification with individual data, it should be borne in mind that difficulties were encountered, since the authors use different terminologies. Whereas some use the term "modification" to classify what is in reality "stratification into subgroups", others speak of stratification, with it not being clear whether different statistical models are being used for each group of subjects of the variable "stratification", or whether an interaction term is being introduced into the model to assess effect modification. Furthermore, as with any systematic review, publication bias may be present.

**Conclusions:**

By way of conclusion, the CCO design could be said to be an attractive alternative to Poisson time-series analysis with GAM, though its advantages and drawbacks are still perhaps in the process of being understood. The use of CCO designs to study the relationship between air pollution and health has experienced a great upsurge, but save for a few exceptions, full advantage has not been taken in terms of effect modification or spatial-temporal analyses. Moreover, while a number of simulations have been conducted to study the performance of CCO designs, it remains for the performance of discontinuous variables, such as ozone, to be studied. A further, very important challenge would be to undertake an in-depth longitudinal analysis of CCO designs, which would enhance their statistical power and enable them to be applied to spatial-temporal models.

**REFERENCES**

- Andrews C, Buist S, Chaitman B, Hackney J, Rom W, Samet J, et al. 1985. Guidelines as to What Constitutes and Adverse Respiratory Health Effect, with Special Reference to Epidemiologic Studies of Air Pollution. *Am Rev Respir Dis* 1985 13:666-668.
- Barnett AG, Williams GM, Schwartz J, Neller AH, Best TL, Petroeschevsky AL, et al. 2005. Air pollution and child respiratory health: a case-crossover study in Auckland New Zealand. *Am J Respir Crit Care Med* 171:1272-1278.
- Bateson TF, Schwartz J. 1999. Control for seasonal variation and time trend in case-crossover studies of acute effects of environmental exposures. *Epidemiology* 10:539-544.
- Bateson TF, Schwartz J. 2001. Selection bias and confounding in case-crossover analyses of environmental time-series data. *Epidemiology* 12:654-661.
- Bateson TF, Schwartz J. 2004. Who is sensitive to the effects of particulate air pollution on mortality? A case-crossover analysis of effect modifiers. *Epidemiology* 15:143-149.
- Boutin-Forzano S, Adel N, Gratecos L, Jullian H, Garnier JM, Ramadour M, et al. 2004. Visits to the emergency room for asthma attacks and short-term variations in air pollution. A case-crossover study. *Respiration* 71:134-137.
- Carracedo-Martinez E, Sanchez C, Taracido M, Saez M, Jato V, Figueiras A. 2008. Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain. *Allergy* 63:347-353.
- Chang CC, Tsai SS, Ho SC, Yang CY. 2005. Air pollution and hospital admissions for cardiovascular disease in Taipei, Taiwan. *Environ Res* 98:114-119.
- Checkoway H, Levy D, Sheppard L, Kaufman J, Koenig J, Siscovick D. 2000. A case-crossover analysis of fine particulate matter air pollution and out-of-hospital sudden cardiac arrest. *Res Rep Health Eff Inst* (99):5-28.
- Cheng MF, Tsai SS, Wu TN, Chen PS, Yang CY. 2007. Air Pollution and Hospital Admissions for Pneumonia in A Tropical City: Kaohsiung, Taiwan. *J Toxicol Environ Health* 70: 2021 - 2026.
- D'Ippoliti D, Forastiere F, Ancona C, Agabiti N, Fusco D, Michelozzi P, et al. 2003. Air pollution and myocardial infarction in Rome: a case-crossover analysis. *Epidemiology* 2003 ;14:528-535.

- Dominici F, McDermott A, Zeger SL, Samet JM. 2002. On generalized additive models in time series studies of air pollution and health. *Am J Epidemiol* 156:193-203.
- Figueiras A, Cadarso-Suarez C. 2001. Application of nonparametric models for calculating odds ratios and their confidence intervals for continuous exposures. *Am J Epidemiol* 154:264-275.
- Figueiras A, Carracedo-Martinez E, Saez M, Taracido M. 2005. Analysis of case-crossover designs using longitudinal approaches: a simulation study. *Epidemiology* 16:239-246.
- Filleul L, Rondeau V, Cantagrel A, Dartigues JF, Tessier JF. 2004. Do subject characteristics modify the effects of particulate air pollution on daily mortality among the elderly? *J Occup Environ Med* 46:1115-1122.
- Firket J. 1931. The cause of symptoms found in the Meuse Valley during the fog of December, 1930. *Bull Acad R Med Belg* 11:683-741.
- Forastiere F, Stafoggia M, Picciotto S, Bellander T, D'Ippoliti D, Lanki T, et al. 2005. A case-crossover analysis of out-of-hospital coronary deaths and air pollution in Rome, Italy. *Am J Respir Crit Care Med* 172:1549-1555.
- Forastiere F, Stafoggia M, Tasco C, Picciotto S, Agabiti N, Cesaron G, et al. 2007. Socioeconomic Status, Particulate Air Pollution, and Daily Mortality: Differential Exposure or Differential Susceptibility. *Am J Ind Med* 50:208-216.
- Fung KY, Krewski D, Chen Y, Burnett R, Cakmak S. 2003. Comparison of time series and case-crossover analyses of air pollution and hospital admission data. *Int J Epidemiol* 32:1064-1070.
- Hajat S. 2003. Commentary: Comparison of time series and case-crossover analyses of air pollution and hospital admission data. *Int J Epidemiol* 32:1071.
- Henrotin JB, Besancenot JP, Bejot Y, Giroud M. 2007. Short-term effects of ozone air pollution on ischaemic stroke occurrence: a case-crossover analysis from a 10-year population-based study in Dijon, France. *Occup Environ Med* 64:439-445.
- Hinwood AL, De Klerk N, Rodríguez C, Jacoby P, Runnion T, Rye P, et al. 2006. The relationship between changes in daily air pollution and hospitalizations in Perth, Au 1992-1998: A case-crossover study. *Int J Environ Health Res* 16:27-46.
- Jaakkola JJ. 2003. Case-crossover design in air pollution epidemiology. *Eur Respir J Suppl* 40:81s-85s.

- Jalaludin B, Khalaj B, Sheppard V, Morgan G. 2008. Air pollution and ED visits for asthma in Aun children: a case-crossover analysis. *Int Arch Occup Environ Health* 81:967-974.
- Janes H, Sheppard L, Lumley T. 2005a. Case-crossover analyses of air pollution exposure data: referent selection strategies and their implications for bias. *Epidemiology* 16:717-726.
- Janes H, Sheppard L, Lumley T. 2005b. Overlap bias in the case-crossover design, with application to air pollution exposures. *Stat Med.* 2005;24:285-300.
- Johnston FH, Bailie RS, Pilotto LS, Hanigan IC. 2007. Ambient biomass smoke and cardio-respiratory hospital admissions in Darwin, Au. *BMC Public Health* 7:240 doi:10.1186/1471-2458-7-240.
- Kan H, Chen B. 2003. A case-crossover analysis of air pollution and daily mortality in Shanghai. *J Occup Health* 45:119-24.
- Karr C, Lumley T, Shepherd K, Davis R, Larson T, Ritz B, et al. 2006. A Case-Crossover Study of Wintertime Ambient Air Pollution and Infant Bronchiolitis. *Environ Health Perspect* 114:277-281.
- Kelsall JE, Samet JM, Zeger SL, Xu J. 1997. Air pollution and mortality in Philadelphia, 1974-1988. *Am J Epidemiol* 146:750-762.
- Kim SY, O'Neill MS, Lee JT, Cho Y, Kim J, Kim H. 2007. Air pollution, socioeconomic position, and emergency hospital visits for asthma in Seoul, SK. *Int Arch Occup Environ Health* 80:701-710.
- Kunzli N, Schindler C. 2005a. A call for reporting the relevant exposure term in air pollution case-crossover studies. *J Epidemiol Community Health* 59:527-530.
- Kunzli N, Schindler C. 2005b. Case-crossover studies. *Epidemiology* 16:592-593.
- Kwon HJ, Cho SH, Nyberg F, Pershagen G. 2001. Effects of ambient air pollution on daily mortality in a cohort of patients with congestive heart failure. *Epidemiology* 12:413-419.
- Laurent O, Pedrono G, Segala C, Filleul L, Havard S, Deguen S, et al. 2008. Air pollution, asthma attacks, and socioeconomic deprivation: a small-area case-crossover study. *Am J Epidemiol* 168:58-65.
- Lee IM, Tsai SS, Chang CC, Ho CK, Yang CY. 2007. Air Pollution and Hospital Admissions for Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Tropical City: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol* 19:393 - 398.

- Lee IM, Tsai SS, Ho CK, Chiu HF, Wu TN, Yang CY. 2008. Air pollution and hospital admissions for congestive heart failure: are there potentially sensitive groups? *Environ Res* 108:348-353.
- Lee JT, Kim H, Schwartz J. 2000. Bidirectional case-crossover studies of air pollution: bias from skewed and incomplete waves. *Environ Health Perspect* 108:1107-1111.
- Lee JT, Schwartz J. 1999. Reanalysis of the effects of air pollution on daily mortality in Seoul, SK: A case-crossover design. *Environ Health Perspect* 107:633-636.
- Levy D, Lumley T, Sheppard L, Kaufman J, Checkoway H. 2001a. Referent selection in case-crossover analyses of acute health effects of air pollution. *Epidemiology* 12:186-192.
- Levy D, Sheppard L, Checkoway H, Kaufman J, Lumley T, Koenig J, et al. 2001b. A case-crossover analysis of particulate matter air pollution and out-of-hospital primary cardiac arrest. *Epidemiology* 12:193-199.
- Lin M, Chen Y, Burnett RT, Villeneuve PJ, Krewski D. 2002. The influence of ambient coarse particulate matter on asthma hospitalization in children: case-crossover and time-series analyses. *Environ Health Perspect* 110:575-581.
- Lin M, Chen Y, Burnett RT, Villeneuve PJ, Krewski D. 2003. Effect of short-term exposure to gaseous pollution on asthma hospitalisation in children: a bi-directional case-crossover analysis. *J Epidemiol Community Health* 57:50-55.
- Lin M, Stieb DM, Chen Y. 2005. Coarse particulate matter and hospitalization for respiratory infections in children younger than 15 years in Toronto: a case-crossover analysis. *Pediatrics* 116:e235-240.
- Ljungman PL, Berglund N, Holmgren C, Gadler F, Edvardsson N, Pershagen G, et al. 2008. Rapid effects of air pollution on ventricular arrhythmias. *Eur Heart J* 29:2894-2901.
- Logan WPD. 1953. Mortality in the London fog incident, 1952. *Lancet* 264: 336-338.
- Lu Y, Zeger SL. 2007. On the equivalence of case-crossover and time series methods in environmental epidemiology. *Biostatistics* 8:337-344.
- Lu Y, Symons JM, Geyh AS, Zeger SL. 2008. An approach to checking case-crossover analyses based on equivalence with time-series methods. *Epidemiology* 19:169-175.
- Luginaah IN, Fung KY, Gorey KM, Webster G, Wills C. 2005. Association of ambient air pollution with respiratory hospitalization in a government-designated "area of concern": the case of Windsor, Ontario. *Environ Health Perspect* 113:290-296.

- Lumley T, Levy D. 2000. Bias in the case-crossover design: implications for studies of air pollution. *Environmetrics* 11:689-704.
- Maclure M. 1991. The case-crossover design: a method for studying transient effects on the risk of acute events. *Am J Epidemiol* 133: 144-153.
- Maclure M, Mittleman MA. 2008. Case-crossover designs compared with dynamic follow-up designs. *Epidemiology* 19:176-178.
- Marshall RJ, Jackson RT. 1993. Analysis of case-crossover designs. *Stat Med* 12: 2333-2341.
- Maynard D, Coull BA, Gryparis A, Schwartz J. 2007. Mortality Risk Associated with Short-Term Exposure to Traffic particles and Sulfates. *Environ Health Perspect* 115:751-755.
- Medina-Ramón M, Zanobetti A, Schwartz J. 2006. The Effect of Ozone and PM10 on Hospital Admissions for Pneumonia and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A National Multicity Study. *Am J Epidemiol* 163:579-588.
- Mittleman MA. 2005. Optimal referent selection strategies in case-crossover studies: a settled issue. *Epidemiology* 16:715-716.
- Navidi W. 1998. Bidirectional case-crossover designs for exposures with time trends. *Biometrics* 54: 596-605.
- Navidi W, Thomas D, Langholz B, Stram D. 1999. Statistical methods for epidemiologic studies of the health effects of air pollution. *Res Rep Health Eff Inst* (86):1-50.
- Navidi W, Weinhandl E. 2002. Risk set sampling for case-crossover designs. *Epidemiology* 13:100-105.
- Neas LM, Schwartz J, Dockery D. 1999. A case-crossover analysis of air pollution and mortality in Philadelphia. *Environ Health Perspect* 107:629-631.
- Peel JL, Metzger KB, Klein M, Flanders WD, Mulholland JA, Tolbert PE. 2007. Ambient Air Pollution and Cardiovascular Emergency Department Visits in Potentially Sensitive Groups. *Am J Epidemiol* 165:625-633.
- Perez L, Tobias A, Querol X, Künzli N, Pey J, Alastuey A, et al. 2008. Coarse particles from Saharan dust and daily mortality. *Epidemiology* 19:800-807.
- Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA. 2001. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation* 103:2810-2815.

Peters A, von Klot S, Berglind N, Hörmann A, Löwel H, Nyberg F, et al. 2006. Comparison of different methods in analyzing short-term air pollution effects in a cohort study of susceptible individuals. *Epidemiol Perspect Innov* 3:10.

Peters A, von Klot S, Heier M, Trentinaglia I, Cyrus J, Hörmann A, et al. 2005. Particulate air pollution and nonfatal cardiac events. Part I. Air pollution, personal activities, and onset of myocardial infarction in a case-crossover study. *Res Rep Health Eff Inst* (124):1-66.

Pope CA III, Muhlestein JB, May HT, Renlund DG, Anderson JL, Horne BD. 2006. Ischemic Heart Disease Events Triggered by Short-Term Exposure to Fine Particulate Air Pollution. *Circulation* 114:2443-2448.

Pope CA III, Renlund DG, Kfoury AG, May HT, Horne BD. 2008. Relation of heart failure hospitalization to exposure to fine particulate air pollution. *Am J Cardiol* 102:1230-1234.

Ramsay TO, Burnett RT, Krewski D. 2003. The effect of concurrency in generalized additive models linking mortality to ambient particulate matter. *Epidemiology* 14:18-23.

Rich DQ, Kim MH, Turner JR, Mittleman MA, Schwartz J, Catalana PJ, et al. 2006a. Association of ventricular arrhythmias detected by implantable cardioverter defibrillator and ambient air pollutants in the St Louis, Missouri metropolitan area. *Occup Environ Med* 63:591-596.

Rich DQ, Mittleman MA, Link MS, Schwartz J, Luttmann-Gibson H, Catalana PJ, et al. 2006b. Increased Risk of Paroxysmal Atrial Fibrillation Episodes Associated with Acute Increases in Ambient Air Pollution. *Environ Health Perspect* 114:120-123.

Rich DQ, Schwartz J, Mittleman MA, Link M, Luttmann-Gibson H, Catalano PJ, et al. 2005. Association of short-term ambient air pollution concentrations and ventricular arrhythmias. *Am J Epidemiol*. 161:1123-1132.

Rich KE, Petkau J, Vedal S, Brauer M. 2004. A case-crossover analysis of particulate air pollution and cardiac arrhythmia in patients with implantable cardioverter defibrillators. *Inhal Toxicol* 16:363-372.

Romieu J, Ramirez-Aguilar M, Moreno-Macias H, Barraza-Villarreal A, Millar P, Hernandez-Cadena L, et al. 2004. Infant mortality and air pollution: modifying effect by social class. *J Occup Environ Med* 46:1210-1216.

Ruidavets JB, Cournot M, Cassadou S, Giroux M, Meybeck M, Ferrieres J. 2005. Ozone air pollution is associated with acute myocardial infarction. *Circulation* 111:563-9.

- Saez M, Perez-Hoyos S, Tobias A, Saurina C, Barceló MA, Ballester F. 1999. Métodos de series temporales en los studies epidemiológicos sobre contaminación atmosférica. *Rev Esp Salud Publica* 73:133-143.
- Schwartz J. 2004a. Is the association of airborne particles with daily deaths confounded by gaseous air pollutants? An approach to control by matching. *Environ Health Perspect* 112:557-561.
- Schwartz J. 2004b. The effects of particulate air pollution on daily deaths: a multi-city case crossover analysis. *Occup Environ Med* 61:956-961.
- Schwartz J. 2005. How sensitive is the association between ozone and daily deaths to control for temperature? *Am J Respir Crit Care Med* 171:627-631.
- Ségala C, Poizeau D, Mesbah M, Willems S, Maidenberg M. 2008. Winter air pollution and infant bronchiolitis in Paris. *Environ Res* 106:96-100.
- Sheppard L, Levy D, Checkoway H. 2001. Correcting for the effects of location and atmospheric conditions on air pollution exposures in a case-crossover study. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 11:86-96.
- Son JY, Cho YS, Lee JT. 2008. Effects of air pollution on postneonatal infant mortality among firstborn infants in Seoul, SK: case-crossover and time-series analyses. *Arch Environ Occup Health* 63:108-113.
- Stafoggia M, Schwartz J, Forastiere F, Perucci CA; SISTI Group. 2008. Does temperature modify the association between air pollution and mortality? A multicity case-crossover analysis in Italy. *Am J Epidemiol* 167:1476-1485.
- Sullivan J, Ishikawa N, Sheppard L, Siscovick D, Checkoway H, Kaufman J. 2003. Exposure to ambient fine particulate matter and primary cardiac arrest among persons with and without clinically recognized heart disease. *Am J Epidemiol* 157:501-509.
- Sullivan J, Sheppard L, Schreuder A, Ishikawa N, Siscovick D, Kaufman J. 2005. Relation between short-term fine-particulate matter exposure and onset of myocardial infarction. *Epidemiology* 16:41-48.
- Sunyer J, Basagana X. 2001. Particles, and not gases, are associated with the risk of death in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Epidemiol* 30:1138-1140.
- Sunyer J, Basagana X, Belmonte J, Anto JM. 2002. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma. *Thorax* 57:687-693.

Sunyer J, Schwartz J, Tobias A, Macfarlane D, Garcia J, Anto JM. 2000. Patients with chronic obstructive pulmonary disease are at increased risk of death associated with urban particle air pollution: a case-crossover analysis. *Am J Epidemiol* 151:50-56.

Symons JM, Wang L, Guayar E, Howell E, Dominici F, Schwab M, et al. 2006. A Case-Crossover Study of Fine Particulate Matter Air Pollution and Onset of Congestive Heart Failure Symptom Exacerbation Leading to Hospitalization. *Am J Epidemiol* 164:421-433.

Tecer LH, Alagha O, Karaca F, Tuncel G, Eldes N. 2008. Particulate matter (PM(2.5), PM(10-2.5), and PM(10)) and children's hospital admissions for asthma and respiratory diseases: a bidirectional case-crossover study. *J Toxicol Environ Health A* 71:512-520.

Tsai SS, Chen CC, Hisieh HJ, Chang CC, Yang CY. 2006a. Air Pollution and Postneonatal Mortality in a Tropical City: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol* 18:185-189.

Tsai SS, Cheng M, Chiu H, Wu T, Yang CY. 2006b. Air Pollution and Hospital Admissions for Asthma in a Tropical City: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol* 18:549-554.

Tsai SS, Goggins WB, Chiu HF, Yang CY. 2003a. Evidence for an association between air pollution and daily stroke admissions in Kaohsiung, Taiwan. *Stroke* 34:2612-2616.

Tsai SS, Huang CH, Goggins WB, Wu TN, Yang CY. 2003b. Relationship between air pollution and daily mortality in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A* 66:1341-1349.

Villeneuve PJ, Chen L, Stieb D, Rowe BH. 2006. Associations between outdoor air pollution and emergency department visits for stroke in Edmonton, Ca. *Eur J Epidemiol* 21:689-700.

Villeneuve PJ, Chen L, Rowe BH, Coates F. 2007. Outdoor air pollution and emergency department visits for asthma among children and adults: A case-crossover study in northern Alberta, Ca. *Environ Health* 6:40 doi:10.1186/1476-069X-6-40.

Wellenius GA, Bateson TF, Mittleman MA, Schwartz J. 2005a. Particulate air pollution and the rate of hospitalization for congestive heart failure among medicare beneficiaries in Pittsburgh, Pennsylvania. *Am J Epidemiol* 161:1030-1036.

Wellenius GA, Schwartz J, Mittleman MA. 2005b. Air pollution and hospital admissions for ischemic and hemorrhagic stroke among medicare beneficiaries. *Stroke* 36:2549-2553.

Wellenius GA, Schwartz J, Mittleman MA. 2006. Particulate Air Pollution and Hospital Admissions for Congestive Heart Failure in Seven United States Cities. *Am J Cardiol* 97:404-408.

- Xu X, Zborowski JV, Arena VC, Rager J, Talbott EO. 2008. Case-crossover analysis of air pollution and cardiorespiratory hospitalizations: using routinely collected health and environmental data for tracking: science and data. *J Public Health Manag Pract* 14:569-576.
- Yang CY. 2008. Air pollution and hospital admissions for congestive heart failure in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A* 71:1085-1090.
- Yang CY, Chang CC, Chuang HY, Tsai SS, Wu TN, Ho CK. 2004a. Relationship between air pollution and daily mortality in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *Environ Int* 30:519-523.
- Yang CY, Chen CC, Chen CY, Kuo HW. 2007 Air Pollution and Hospital Admissions for Asthma in a Subtropical City: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health* 70:111 - 117.
- Yang CY, Chen CJ. 2007. Air Pollution and Hospital Admissions for Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Subtropical City: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health* 70: 1214 - 1219.
- Yang CY, Chen YS, Yang CH, Ho SC. 2004b. Relationship between ambient air pollution and hospital admissions for cardiovascular diseases in Kaohsiung, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A*. 2004;67:483-93.
- Yang CY, Hsieh HJ, Tsai S-S, Wu TN, Chiu HF. 2006. Correlation Between Air Pollution and Postneonatal Mortality in a Subtropical City: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health* 69: 2033 - 2040.
- Yang Q, Chen Y, Shi Y, Burnett RT, McGrail KM, Krewski D. 2003. Association between ozone and respiratory admissions among children and the elderly in Vancouver, Ca. *Inhal Toxicol* 15:1297-308.
- Zanobetti A, Schwartz J. 2005. The effect of particulate air pollution on emergency admissions for myocardial infarction: a multicity case-crossover analysis. *Environ Health Perspect* 113:978-82.
- Zeger SL, Dominici F, McDermott A, Samet JM. 2008. Mortality in the Medicare Population and Chronic Exposure to Fine Particulate Air Pollution in Urban Centers (2000–2005). *Environ Health Perspect* 116:1614–1619.
- Zeka A, Zanobetti A, Schwartz J. 2005. Short term effects of particulate matter on cause specific mortality: effects of lags and modification by city characteristics. *Occup Environ Med* 62:718-25.

Zeka A, Zanobetti A, Schwartz J. 2006. Individual-Level Modifiers of the Effects of Particulate Matter on Daily Mortality. *Am J Epidemiol* 163:849-859.

36

**Table 1: Comparison of different CCO designs**

Author (year of publication)	Type	Selection of controls	Advantages	Bias in the presence of...	Diagrams
Machure (1991)	Case-crossover (CCO)	One control point prior to the effect	All possible confounding factors undergoing no change between control periods and effect, automatically controlled for by design.	Long-term trends or seasonality	
Navidi (1998)	Full-stratum bidirectional	For each case, all the days of the series other than that of the event taken as controls	Provides control for long-term trends	Long-term trends (only partially controlled for) or seasonality	
Bateson and Schwartz (1999)	Symmetric bidirectional	Two at equal distance of the event	Provides adequate control for long-term trends and seasonality		
Navidi and Weinhandl (2002)	Semi-symmetric bidirectional	One chosen at random from the two used for symmetric bidirectional CCO	Provides adequate control for long-term trends and seasonality		
Lumley and Levy (2000)	Time-stratified	One (or several) within the same time stratum in which the event occurred. For instance, if "month" is set as the time stratum and the event occurs on, say, a Monday, this is then compared with all the Mondays of this same month.	Provides adequate control for long-term trends and seasonality		

Table 2. Characteristics of the scenarios of simulation studies on case-crossover designs applied to the relationship between air pollution and health.

Author (Year)	Long-term trend	Short-term trend (seasonality)	Pollutant <sup>a</sup>	Event variable <sup>a</sup>	Site of real data-collection	Study period
Navidi(1998)	Yes	No	PM <sub>10</sub>	S	10 communities in Southern California	1 January to 30 December 1994
Bateson and Schwartz (1999)	Yes <sup>b</sup>	Yes <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Seattle	1988-1990
Lumley and Levy (2000)	Yes	Yes	Black smoke	S	King County (Washington)	1989-1994
Lee et al (2000)	No	Yes	S	Mortality	Seoul	1 October 1991 to 30 September 1993
Bateson and Schwartz (2001)	Yes	Yes	S	C	King County (Washington)	3 years
Levy and Lumley (2001)	Yes	No	Black smoke	S	King County (Washington)	3 October 1988 to 25 June 1994
Navidi and Weinhandl (2002)	Yes <sup>b</sup>	Yes <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Dortmund (Germany)	1989-1992
Figueroa et al (2003)	Yes	Yes	PM <sub>10</sub>	S	Torino	1981-1993
Figueroa et al (2005)	Yes <sup>b</sup>	Yes <sup>b</sup>	PM <sub>10</sub>	S	Barcelona	1995-1997

a) S: Simulated (variable generated mathematically on the basis of other variables that enter into the simulation). C: Created (variable generated artificially, though not on the basis of other variables that enter into the simulation).

b) The simulations by Bateson and Schwartz 1999, Navidi and Weinhandl 2002 and Figueroa et al 2005 share the same simulation scenario, in the sense that these authors use the same equation to generate trend and seasonality in the data series.

Table 3. Studies published using case-crossover methodology(CCO) for studying air pollution health effects utilizing time symmetric CCO as type of CCO design.

Authors (year of publication)	Country	Study population <sup>a</sup>	Control period	Exposure	Outcome variable
Nees et al. (1998)	US	GP	Days (z7,14,z1)	TSP	Non-accidental MI
Sunyer et al. (2000)	Sp	P with COPD aged > 35 years	Days (z7)	BS	Non-accidental MI
Sunyer et al. (2001)	Sp	P with COPD aged > 35 years	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Non-accidental MI
Yonigata et al. (2001)	SK	P with silent failure	Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Non-accidental MI
Wong et al. (2003)	Ca	GP aged < 14 years and > 65 years	Days (z7)	CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to respiratory disease
Tsai et al. (2003)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to stroke
Lee et al. (2003)	Ch	GP aged > 6 and < 12 years	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Non-accidental MI
Yang et al. (2004)	Ch	GP	Days (z7)	CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to asthma
Yang et al. (2004)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Non-accidental MI
Barnard et al. (2004)	US	GP aged > 65 years	Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to cardiovascular cause
Kim et al. (2005)	Ca	P with pacemaker	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Change in cardiac or respiratory cause
Cheng et al. (2005)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , CO, CO, O <sub>3</sub>	HA due to cardiovascular cause
Lugnet et al. (2005)	An	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , COH, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	HA due to respiratory cause
Burnett et al. (2005)	An	GP aged < 14 years	Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to respiratory infection
Lee et al. (2005)	Ch	GP aged < 14 years	Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to respiratory infection
Yano et al. (2006)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Pneumonia M
Tsai et al. (2006)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to asthma
Cheng et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Pneumonia M
Cheng et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to pneumonia
Lee et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to heart failure
Yong et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to COPD
Yong et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to asthma
Lee et al. (2007)	Ch	GP	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to COPD
Kim et al. (2007)	SK	GP	Days (z7), Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HE due to asthma
Hemrin et al. (2007)	Fr	GP	Days (z7,14,21,28)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Stroke
Kim et al. (2007)	SK	GP	Days (z7,14,21,28)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HE due to asthma
Hemrin et al. (2007)	Fr	GP	Days (z7,14,21,28)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Stroke
Seppala et al. (2008)	Fr	GP aged < 3 years	Days (z7,14,21,28)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Stroke
Yano et al. (2008)	Ch	GP	Days (z7,14,21,28)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HE due to bronchitis
Tsai et al. (2008)	Tu	GP aged < 14 years	Days (z7)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	HA heart failure
Caraceni-Martinez et al. (2008)	Sp	GP	Days (z7,14)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	HA respiratory diseases
Son et al. (2008)	SK	GP	Days (z7)	BS, SO <sub>2</sub>	ETC due to respiratory and cardiovascular causes
Son et al. (2008)	SK	GP	Days (z7), Days (z7,14), Days (z7,14,21)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	Pneumonia M

a) Ha: HA; SK: South Korea; Sp: Sweden; Sp: Spain; Tu: Turkey; US: United States of America; Ch: China; Fr: France; Au: Australia; Jap: Japan; Ca: Canada; NZ: New Zealand; Mex: Mexico; Germany: Ger.  
 b) GP: General population; P: patients  
 c) Interpretation of control periods: Days(z7): control period, 7<sup>th</sup> day before and after the case; Days(z7,14): control period, days 7 and 14 before and after the case; Days(z7,14,21): control period, days 7 to 14 before and after the case.  
 d) M: Mortality; Ep: episodes; ETC: Emergency telephone calls; HA: Hospital admission; HE: Hospital emergency.

Table 4. Studies published using case-crossover (CCO) methodology for studying air pollution health effects utilizing time time-stratified CCO as type of CCO design.

Authors (year of publication)	Country	Study population <sup>a</sup>	Control period <sup>b</sup>	Exposure	Outcome variable <sup>c</sup>
Sullivan et al. (2003)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , CO, SO <sub>2</sub>	Cardiac arrest
Smyer et al. (2002)	SP	Asymptomatic P. aged > 14 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , BS, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	M. due to asthma
Lewy et al. (2001)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	Cardiac arrest
Cherkovoy et al. (2000)	US	GP	-month, -weekday	BS, PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO	Cardiac arrest
D'Agostini et al. (2003)	Ita	GP	-month, -weekday	TSP, CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	HA due to myocardial infarction
Schwartz et al. (2004)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	M. accidental
Romieu et al. (2004)	Mex	GP aged > 1 month and < 1 year	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	M. due to respiratory causes
Wolmar et al. (2005)	US	GP aged > 65 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	M. due to myocardial infarction
Schwartz et al. (2005)	US	GP aged > 65 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO	M. due to myocardial infarction
Wolmar et al. (2005)	US	GP aged > 65 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to heart failure
Wolmar et al. (2005)	US	GP aged > 65 years	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub>	Cardiac arrhythmias
Forastiere et al. (2005)	Ita	P with pacemaker	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , CO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Out-of-hospital cardiovascular M
Zanobetti et al. (2005)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	HA due to myocardial infarction
Zeka et al. (2005)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	Non-accidental M
Wolmar et al. (2005)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, NO <sub>2</sub>	HA due to stroke
Pope et al. (2006)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Ischemic coronary events
Villeneuve et al. (2006)	Ca	GP aged > 45 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HF due to ischemic stroke
Symons et al. (2006)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	HA due to heart failure
Zeka et al. (2006)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , O <sub>3</sub>	Non-accidental, cardiovascular and respiratory M
Rich et al. (2006)	US	P with pacemaker	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to myocardial infarction
Rich et al. (2006)	US	P with pacemaker	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to myocardial infarction
Wolmar et al. (2006)	US	GP aged < 1 year	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to heart failure
Rich et al. (2006)	US	GP aged < 1 year	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to bronchitis
Rich et al. (2006)	US	P with pacemaker	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	Ventricular arrhythmia Ep
Zanobetti et al. (2006)	US	GP aged > 65 years	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , BS, CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to myocardial infarction and pneumonia
Hamwood et al. (2006)	AU	GP	-month, -weekday	BS, PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to cardiovascular and respiratory disease
Barnett et al. (2006)	AU, NZ	GP aged > 15 years	-month, all days but day ± 1	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to cardiovascular causes
Forastiere et al. (2007)	Ita	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	Non-accidental M
Pope et al. (2007)	Ca	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HF due to cardiovascular causes
Johnson et al. (2007)	AU	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub>	HA due to cardiovascular and respiratory causes
Margolis et al. (2007)	US	GP	-month, all days but 2 days between	BS, Sulfate particles	Non-accidental, cardiovascular and respiratory M
Tamozaki et al. (2007)	Jap	GP aged > 65 years	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	HA due to stroke
Wolmar et al. (2008)	US	GP aged > 1 and < 14 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , CO	HF
Pezer et al. (2008)	Sp	GP aged > 1 and < 14 years	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	Non-accidental M
Laurent et al. (2008)	Fr	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	ETIC due to asthma
Lee et al. (2008)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub>	HA heart failure
Pope et al. (2008)	US	GP	-month, -weekday	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	HA heart failure
Ljungman et al. (2008)	Sw	P with pacemaker	-month, -weekday, -hour	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub>	Ventricular arrhythmia Ep
Stalogg et al. (2008)	Ita	GP aged > 35 years	-month, all days but 1 day between	PM <sub>10</sub>	Non-accidental M

a Ita: Italy, SK: South Korea, Sw: Sweden, Sp: Spain, Tur: Turkey, US: United States of America, Chi: China, Fr: France, Au: Australia, Jap: Japan, Ca: Canada, NZ: New Zealand, Mex: Mexico, Germany: Ger.

b GP: General population, P: patients.

c (month, -weekday): control periods, all the days of the same month as that of the case, which are the same day of the week; (-hour): control periods, hours that coincide with those of the case, on days in the same month as the case, which are the same day of the week; (-month, d<sup>h</sup>): temperature: control periods, days in the same month as and having a temperature equal to that of the case date; (-month, all days but 2 days between): control periods, all days in the same month as that of the case except 2 days between each control day.

d M: Mortality, Ep: episode, ETIC: Emergency telephone calls, HA: Hospital admission, HF: Hospital emergency.

Table 5. Studies published using case-crossover (CCO) methodology for studying air pollution health effects utilizing multiple types of CCO designs or others different than symmetric or time-stratified CCO.

Authors (year of publication)	Country	Study population <sup>a</sup>	Type of CCO design <sup>b</sup>	Exposure	Outcome variable <sup>c</sup>
Lee et al. (1989)	SK	GP	U(7,0), U(7, 14d), U(7,7), U(7, 14d), SBI(7,7)	TSP, SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	Non-accidental M
Peters et al. (2001)	US	GP	U(2,3,4d)	PM <sub>2.5</sub>	Myocardial infarction
Lin et al. (2002)	Ca	GP aged 6 to 12 years	U(-14d), SBI(7,14d)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub>	HA due to asthma
Kim et al. (2003)	Ch	GP	U(-7, 14, 21d), SBI(7, 14, 21d)	PM <sub>10</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub>	Non-accidental M
Filieu et al. (2004)	Fr	GP aged > 65 years	SSBI(7, or 7d)	BS	Non-accidental M and cardiovascular mortality
Boulin-Fortino et al. (2004)	Fr	GP aged > 3 and < 49 years	U(7,0)	SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HE due to asthma
Rudnicki et al. (2005)	Fr	GP	U(7, 14, 21, 28d), SBI(7,7)	O <sub>3</sub> , SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub>	HA due to myocardial infarction
Peters et al. (2005)	Ger	GP	U(-1,3)d), U(-1,3)d(=h), SBI(7,14d =h), SBI(7, 14d =h)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , TSP, SO <sub>2</sub> , CO, NO, NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub>	HA due to myocardial infarction
Schweitz et al. (2004)	US	GP	SBI(7,0), TSI(m, d = T)	PM <sub>10</sub>	Non-accidental M
Villeneuve et al. (2007)	Ca	GP	SBI(7,14d), TSI(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HE due to asthma
Villeneuve et al. (2007)	Ca	GP	SBI(7,14d), TSI(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , PM <sub>2.5</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	HE due to asthma
Xu et al. (2008)	US	GP	SBI(7,14d), TSI(m, =wd)	PM <sub>10</sub> , SO <sub>2</sub>	HA, respiratory and cardiovascular diseases

a) Ita, Italy; SK, South Korea; Sw, Sweden; Sp, Spain; Tu, Turkey; US, United States of America; Ch, China; Fr, France; Au, Australia; Jap, Japan; Ca, Canada; NZ, New Zealand; Mex, Mexico; Germany, Ger.

b) U: Unifunctional CCO; SBI: Semi-symmetric bifunctional CCO; TSI: Time-stratified CCO; U: Unifunctional CCO; Interpretation of control periods: SBI(7,0): control period, 7<sup>th</sup> day before and after the case; SBI(7,14d): control period, days 7 and 14 before and after the case; SBI(7,14d): control period, days 7 to 14 before and after the case; TSI(m, =wd): control periods, all the days of the same month as that of the case, which are the same day of the week; TSI(m, =wd, =h): control periods, hours that coincide with those of the case, on days in the same month as the case, which are the same day of the week; TSI(m, d=T): control periods, days in the same month as and having a temperature equal to that of the case data; U(7,0): one control day, 7 days before the case.

c) M: Morbidity; Ep: episode; ETC: Emergency telephone calls; HA: Hospital admission; HE: Hospital emergency.

Appendix: Field example of application of CCO designs to studying the relationship between air pollution and health.

The steps to be followed to conduct a study into the relationship between air pollution and health can be summarized as follows:

1. Confirm that the study variables meet the conditions for being able to study the association using a CCO:
  - a. Exposure variables must be transitory (prolonged exposures such as radon would not be valid).
  - b. Event variables must be acute (events such as cancer would not be valid).
  - c. Proportion of missing data must be small.
2. The databases obtained can be classified into one of the following types:
  - a. Only contain ecologic temporal cluster data
  - b. Contain ecologic temporal and spatial cluster data
  - c. Individual data available. This enables effect modification to be subsequently studied at the level of variables having characteristics pertaining to individuals.
3. For exposure variables, compute the individual (0, 1, 2, 3) or combined lags (01, 23..) depending on the nature of the dependent variable (longer lags are needed for mortality than for morbidity variables).

4. Transform the database into a matrix with a CCO structure, i.e., with as many strata as there are events and in each stratum there is a case-period that would be formed by exposure at the time of the event (or the corresponding lag) and one (or more) control periods which would be formed by exposure in the periods selected as controls (e.g., in a symmetric CCO design, these could be day 7 before and after the event). Where it is an ecologic database consisting solely of temporal cluster data, calculations are simplified because:
  - a. There are macros in S-Plus which transform an ecological matrix into a symmetric CCO, semisymmetric CCO or time-stratified CCO (these may be requested from the corresponding author); and,
  - b. There is the possibility of conducting CCO studies using an ecologic matrix, with weighting for the daily number of events in the regression models. The advantages are that transformation into a CCO matrix is not necessary, the size of the database is smaller, and computing time is shorter.
  
5. When it comes to relating dependent and independent variables, perform the statistical analysis according to the following steps:
  - a. Construct a baseline model by introducing variables, such as temperature, ambient humidity, and atmospheric pressure. For these types of environmental variables, non-linear risk exposure relationships might have to be checked. For the purpose, use can be made of different smoothers, such as natural splines, penalized splines or smoothing splines. To decide whether or not a variable is retained in the model or the number of degrees of freedom of the smooth

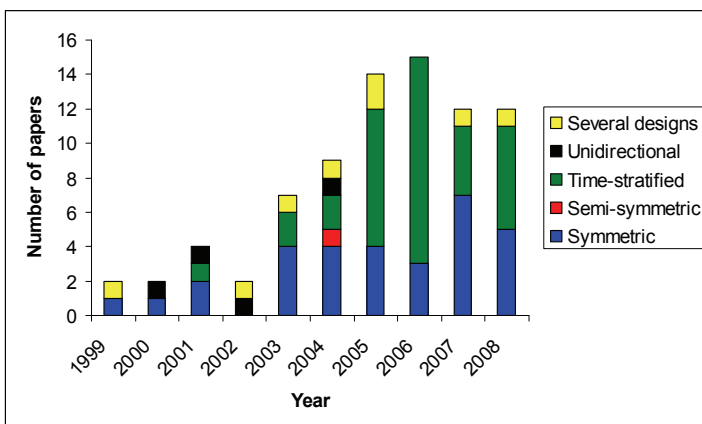
function, use can be made of the minimization criterion of the Akaike Information Criterion (AIC) (Figueiras et al. 2001).

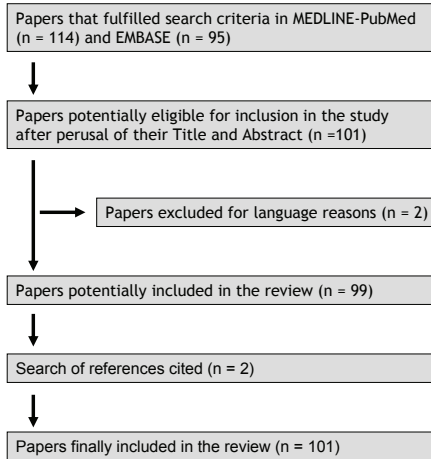
- b. Construct the single-pollutant models by adding the pollutants to the baseline model.
  - c. Construct the multipollutant models by adding those pollutants to the baseline model, which have obtained a given p-value in the single-pollutant model.
  - d. Analyze possible effect modification by reference to the statistical significance of the interaction term.
  - e. Analyze statistical power (Symons et al. 2006).
6. Check the models according to the method the proposed by Lu et al.(2008).
  7. Conduct a sensitivity analysis, by analyzing the models using another type of CCO design or even a Poisson time series.
  8. Report the results obtained.

Figure Legends

Figure 1: Identification of studies and inclusion criteria

Figure 2: Trend in the use of different case-crossover methods for analyzing the short-term relationship between air pollution and health







## **7.2) *Epidemiology* 2005;16:239-46.**

Figueiras A, Carracedo-Martinez E, Saez M, Taracido M.  
Analysis of case-crossover designs using longitudinal approaches: A simulation study.



# Analysis of Case-Crossover Designs Using Longitudinal Approaches

## A Simulation Study

Adolfo Figueiras,\* Eduardo Carracedo-Martínez,\* Marc Saez,† and Margarita Taracido\*

**Background:** Application of case-crossover designs provides an alternative to time-series analysis for analyzing the health-related effects of air pollution. Although some case-crossover studies can control for trend and seasonality by design, to date they have been analyzed as matched case-control studies. Such analyses may exhibit biases and a lower statistical efficiency than traditional time series analyzed with Poisson.

**Methods:** In this article, case-crossover studies are treated as cohort studies in which each subject is observed for a short period of time before and/or after the event, thus making possible analyzing with Andersen-Gill and generalized linear mixed models. We conducted a simulation study to compare the behavior of these models applied to case-crossover designs with time series analyzed with Poisson and with case-crossover analyzed by conditional logistic regression. To this end, we created a random variable that follows a Poisson distribution of low (2/day) and high mean events (22/day). This variable is a function of an unobserved confounding variable (that introduces trend and seasonality) and data on small particulate matter (PM<sub>10</sub>) from Barcelona. In addition, scenarios were created to assess the effect on exposure exerted by autocorrelation and the magnitude of the pollutant coefficient.

**Results:** The full semisymmetric design analyzed with generalized linear mixed models yields good coverage and a high statistical power for air-pollution effect magnitudes close to the real values but shows bias for high effect magnitudes. This bias seems to be attributable to autocorrelation in the exposure variable.

**Conclusions:** Longitudinal approaches applied to case-crossover designs may prove useful for analyzing the acute effects of environmental exposures.

(*Epidemiology* 2005;16: 239–246)

In recent years, keen interest has been shown in the application of case-crossover analyses to the study of the relationship between air pollution and health.<sup>1–5</sup> Maclure<sup>6</sup> proposed case-crossover designs to study the effects of transient exposures on the occurrence of acute events. In these designs, only cases are sampled, and estimates are based on within-subject comparisons of exposures at the time of and before the effect (“case” and “control” periods, respectively). This design has several advantages. Control subjects do not have to be sampled, thereby reducing study costs and eliminating the source of bias attributable to poor selection of controls. In addition, when intrasubject comparisons are made, all possible confounders (whether measured or not), not modified between the control and case periods, are automatically controlled for by design, since they remain constant for each subject.<sup>6–8</sup>

Initially, variations of case-crossover designs were proposed in which the control periods were in all cases situated before the date of the effect.<sup>9,10</sup> When these designs are applied to exposures exhibiting a time trend, risk estimates could be confounded by the time trend in such an exposure.<sup>11</sup> Indeed, this might well be the situation in studies addressing the effect of air pollutants on mortality and morbidity. Navidi<sup>7</sup> proposed bidirectional case-crossover, in which “case” exposures are compared with “control” exposures selected both before and after the event, as well as 2 modes of control-period selection (full-stratum bidirectional case-crossover and random bidirectional case-crossover). This modification proved adequate to control for trend in exposure, but not for confounding due to unobserved variables with a systematic temporal component, which are the main source of seasonality in mortality and morbidity studies.<sup>8</sup>

Submitted 5 March 2003; final version accepted 23 November 2004.

From the\*Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela; and †Statistics, Applied Economics and Health Research Group (Grup de Recerca en Estadística, Economia Aplicada i Salut - GRECS), University of Girona, Spain.

Supported by the Spanish Ministry of Health, Health Research Fund: Fondo de Investigación Sanitaria grants 00/0010–05 and 99/1189.

Supplemental material for this article is available with the online version of the journal at [www.epidem.com](http://www.epidem.com)

Correspondence: Adolfo Figueiras, Dto. de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina, 15705 Santiago de Compostela (A Coruña) Spain. E-mail: [adolfo.figueiras@usc.es](mailto:adolfo.figueiras@usc.es).

Copyright © 2005 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 1044-3983/05/1602-0239

DOI: 10.1097/01.ede.0000152915.58564.d3

Bateson and Schwartz<sup>8</sup> proposed symmetric bidirectional case-crossover as a new way of selecting "control" periods, with a 1-day control period being chosen a week before and after the event. In their simulation they observed that symmetric case-crossover controls for trend and seasonality in unmeasured confounding variables.<sup>8</sup> In subsequent simulation analyses,<sup>12</sup> the same authors reported that symmetric case-crossover may display biases attributable both to selection (subjects at the beginning or end of the series have fewer control periods, and these are asymmetric) and confounding (where exposure and effect share the same short-term temporal pattern); however, when the control periods are reduced to 1 week, both biases are minimized.<sup>12</sup> According to a later simulation analysis by Navidi et al,<sup>13</sup> symmetric case-crossover may nevertheless exhibit biases in cases where exposure is characterized by a time trend. These authors therefore proposed a new design, called semisymmetric bidirectional case-crossover, in which a single control period is randomly chosen one week before or after the event.<sup>13</sup> To analyze such a study they applied a likelihood function derived from conditional logistic regression adapted to the sampling method used.<sup>13,14</sup> In their simulations, Navidi et al<sup>13</sup> have found that semi-symmetric bidirectional case-crossover affords good control of exposure trends and unobserved confounding variables. Moreover, according to Levy et al,<sup>5</sup> in designs in which the control periods are selected at fixed intervals before or after the case event, only one data configuration is possible. Under these conditions, the likelihood used by conditional logistic regression is not the correct one, and may give rise to certain biases in the estimates. The authors report that this effect does not exist where the cases may occur at any point in the window from which the controls are chosen, as in the time-stratified case-crossover proposed by Lumley et al<sup>15</sup> This design is based on dividing the study time a priori into fixed strata (eg, calendar months) and selecting the control days from among the remaining days of the stratum.

In all previous designs case-crossover studies were analyzed as matched case-control studies, as initially envisaged by McClure,<sup>6</sup> using conditional logistic regression<sup>7,8,12</sup> or derivations.<sup>13</sup> This gives rise to 2 limitations. Conditional logistic regression-based analysis can lead to biased estimates in cases where exposure displays a time trend or seasonality,<sup>13,16,17</sup> and the likelihood used by conditional logistic regression is not correct.<sup>5,15</sup> Secondly, because this is a marginal approach in which all the information available, particularly within-subject correlation, is not used, it entails an important loss of statistical efficiency vis-à-vis time-series studies with Poisson regression studies.<sup>8</sup>

From an epidemiologic standpoint, case-crossover designs can be regarded as the observational equivalent of clinical crossover trials, with the difference that only a sample of the population base is studied.<sup>6</sup> A feature common to

all case-crossover designs is that each subject has measures of exposure and effect variables at different points in time. The period of time that elapses between the first and last assessments can be viewed as the follow-up period during which each subject's exposure and/or effect is modified. Indeed, when Maclure<sup>6</sup> first proposed the case-crossover design he linked it to cohort studies, describing it as "the counterpart to a cohort study with crossover of subjects between periods of exposure and non exposure." The principal difference between case-crossover studies and traditional cohort designs is that for case-crossover designs only those subjects that have suffered the event are sampled.

From a statistical point of view, case-crossover designs can be regarded as longitudinal studies since "each individual is repeatedly measured over time,"<sup>18</sup> and this measure may be prospective or retrospective.<sup>18</sup> One of the characteristics of longitudinal data is their high statistical efficiency<sup>18</sup> and the fact that each subject acts as his own control, thereby eliminating the influence of genetic factors or habits that remain constant over time.<sup>18</sup> Thanks to the advantages afforded by longitudinal analysis techniques, application of this analyses techniques to cohort studies,<sup>19,20</sup> parallel clinical trials<sup>21</sup> or crossover trials is very widespread.<sup>18</sup> If case-crossover studies are analyzed as longitudinal data, the application of random effects in the independent term enables heterogeneity to be eliminated among the various subject—heterogeneity that may stem from unmeasured confounding variables such as trend and seasonality. On the other hand, the statistical efficiency of such conditional models is very high, because—unlike conditional logistic regression—the fact that the study has repeated measures is taken into account. The other possibility is for case-crossover studies to be considered as cohort studies in which the explanatory variables are dependent on time, to analyze them as survival models.

The precise statistical approach best suited to analyzing case-crossover designs as follow-up studies is not known, and so we suggest to evaluate various analytic options. We conducted a simulation study in which we compared the results of analyzing case-crossover designs using longitudinal analysis methods (generalized linear mixed models; GLMM), survival analysis methods (Andersen-Gill approach to proportional hazards regression) and methods used in matched case-control designs (conditional logistic regression). A further comparison was run between the results obtained and those yielded by time-series studies with Poisson regression.

## METHODS

### Design

The simulation framework is taken from a scenario used in earlier studies (Bateson et al<sup>8</sup> and Navidi et al<sup>13</sup>) to compare our results with previous studies we constructed a 3-year (1096-day) series in which the number of events per

day followed a Poisson distribution, as shown in the following model:

$$Y_i \sim \text{Poisson}(\mu_i)$$

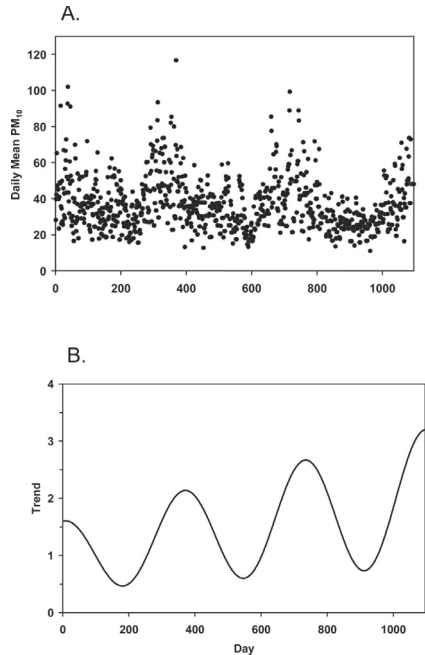
$$\log(\mu_i) = \alpha + \beta_1 PM_{10} + \beta_2 trend \quad (1)$$

where  $Y_i$  denotes the number of events that can follow a mean of 2 or 22, and  $\beta_1$  denotes the log RR of  $Y$  associated with increases in particulates of less than 10  $\mu\text{m}$  in diameter ( $PM_{10}$ ). As in other studies,<sup>13</sup>  $\beta_1$  was set at 0.001, though other scenarios were also assessed with  $\beta_1$  assigned values from 0 to 0.005. The  $PM_{10}$  series was drawn from data recorded for the city of Barcelona, Spain, during the period 1995–1997 (Fig. 1A). In expression (1), *trend* is an unobserved confounding variable that has a seasonal and trend component (Fig. 1B), was used in other simulation studies,<sup>8,13</sup> and has the following formula:

$$trend = (1 + day/1096)[1 + 0.6\cos(2\pi(day/365))].$$

In Eq 1, coefficient  $\beta_2$  assumes a value of 0.1 or 0 as respectively established by scenarios with or without confounding due to unobserved variables. To assess the effect of  $PM_{10}$  autocorrelation on the estimates, we created a new time series without autocorrelation. To this end, the original  $PM_{10}$  series was repermuted (random reassignment of existing data) on the basis of the original data series.

On the basis of the time series generated by Eq 1, data were obtained using different structures. First, we used a symmetric case-crossover design having 2 control days, one 7 days before and the other 7 days after the event,<sup>8</sup> with subjects being excluded from the first and last 7 days of the series to avoid selection bias.<sup>12</sup> We also employed a semi-symmetric case-crossover design,<sup>13</sup> in which a single control day was chosen at random 7 days before or after the event (Table 1). When conditional logistic regression was applied to this design, weighting was performed to avoid the influence, which is exerted by subjects failing near the beginning or end of the observation time and which results in only one of the 2 potential control times being observable.<sup>13</sup> In the semisymmetric design, a stratum is formed for each case by choosing a control time, with equal probability, before or after the referent time. This design calls for the use of a likelihood function altered to achieve a weighted conditional logistic regression,<sup>13</sup> but the procedure is nevertheless difficult to implement with standard software. We therefore created the effect of weighting by means of sampling, so as to be able to use standard conditional logistic regression: where a case in any given stratum had a weighting of 0.5, a second control was added on the same day as that on which the case had occurred; and where a control in any given stratum had



**FIGURE 1.** Simulation basis. A, Daily mean  $PM_{10}$  levels in Barcelona for 1096 days during the period 1995–1997. Units shown in  $\text{mg}/\text{m}^3$ . B, Trend variable associated with both daily exposure measure and outcome count to introduce confounding.

a weighting of 0.5, a second case was added on the same day as that on which the first case had occurred.

Third, time-stratified case-crossover was applied.<sup>5,6</sup> To this end, calendar months were taken as strata, and controls for each case day were taken as being all those days of the same stratum (month) having the same day of the week as the referent day, for example, where the case day was Saturday 9 December 1995, the control days would be the remaining Saturdays in December.

Fourth, we used a full-symmetric case-crossover design, in which the 7 days before and 7 days after the event were chosen as the control period (Figure available with the electronic version of this article). Finally, we examined a full semisymmetric case-crossover design, for which a control

TABLE 1. Results of the Simulation Study Whereby Different Means of Analysis Were Applied to Studies of the Association Between Pollution and Morbidity–Mortality. True Coefficient = 0.001.

Mean Events/Day	Seasonal Confounding*	Case–Crossover									
		Time-Series Analyzed With Nonparametric Poisson					Analyzed as Case–Control*				
		Standard GAM†	With gamexae <sup>‡</sup>	Symmetric <sup>§</sup>	Semi-symmetric <sup>  </sup>	Time-stratified**	Full Symmetric††	Longitudinal <sup>‡‡</sup>	Survival <sup>§§</sup>	Full Semisymmetric <sup>¶¶</sup>	Survival <sup>   </sup>
2	No	-3.45	-3.45	6.33	-5.46	-5.59	-18.46	-18.46	-25.48	2.05	-9.08
		1.72	1.72	2.38	2.81	2.18	1.16	1.16	1.17	1.30	1.49
		% Coverage <sup>§§§</sup>	91.2	95.8	96.4	95.5	98.9	98.9	94.3	96.6	94.4
		% Significance <sup>¶¶¶</sup>	15.7	8.7	6.5	6.4	7.6	4.2	10.7	8.7	10.5
	Yes	-7.37	-7.37	12.85	8.85	10.88	-27.31	-27.31	-34.29	-0.19	-10.83
		1.49	1.49	2.28	2.79	2.10	1.11	1.11	1.14	1.18	1.37
		% Coverage <sup>§§§</sup>	95.0	97.0	95.9	94.7	96.0	96.9	93.5	96.9	94.6
		% Significance <sup>¶¶¶</sup>	8.0	3.0	6.6	7.1	8.2	2.2	7.9	8.3	11.7
22	No	0.78	0.78	8.79	1.80	1.81	-18.34	-18.34	-29.31	3.54	-10.44
		0.53	0.53	0.71	0.84	0.65	0.35	0.35	0.37	0.36	0.42
		% Coverage <sup>§§§</sup>	89.9	94.4	95.6	95.0	94.7	97.0	86.8	99.0	95.2
		% Significance <sup>¶¶¶</sup>	57.8	48.1	32.4	23.5	35.7	43.2	50.2	67.3	52.5
	Yes	2.34	2.34	13.07	2.92	12.73	-17.49	-17.49	-28.27	7.91	-7.35
		0.50	0.50	0.70	0.81	0.63	0.32	0.32	0.35	0.39	0.40
		% Coverage <sup>§§§</sup>	91.3	95.6	94.5	94.7	95.0	96.1	83.35	96.4	95.3
		% Significance <sup>¶¶¶</sup>	61.4	51.4	37.0	23.5	42.3	53.7	60.0	70.7	62.6

\*Analyzed as matched case–control with conditional logistic regression.  
 †By unpenalized trend variable with trend and seasonality component (see Fig. 1B).  
 ‡Analyzed by means of generalized additive models with Poisson response, using smoothing splines with 7 degrees of freedom per year as smoothers to control for trend.  
 §Analyzed by means of generalized additive models with Poisson response, using smoothing splines with 7 degrees of freedom per year as smoothers to control for trend, and strict convergence criteria.  
 ¶One control day: one 7 days before, and the other 7 days after the event. With subjects from the first and last 7 days of the series being eliminated (see references<sup>8</sup> and<sup>12</sup>).  
 \*\*Calendar months taken as strata, with referent days matched on day of week within strata (see references<sup>8</sup> and<sup>12</sup>).  
 ††Control period: 7 days before and 7 days after the event.  
 ‡‡Randomly chosen control period: 14 days before or after the event.  
 §§Analyzed by means of GLMMs.  
 ¶¶Analyzed by means of AG; Andersen-Gill approach to proportional hazards regression.  
 |||Percentage of bias of mean coefficients of 1000 replicates vis-à-vis true value of coefficient:  $(\hat{\beta} - \beta)/100/\beta$ .  
 §§§Standard deviation of the coefficients of 1000 replicates.  
 ¶¶¶% of replicates that include the true value of the coefficient within the 95% CI of the coefficient (0.001).  
 ||||% of replicates that prove statistically significant (lower confidence interval above 0). Acts as indicator of statistical efficiency.

period of 14 days before or after the event was chosen at random. A control period of 14 days was used so that the statistical power would be comparable with that of the full-symmetric design. The S-Plus syntax for implementing these samplings will be made available to any reader who requests it from the corresponding author.

### Data Analysis

Data were analyzed using different methods. In the first place, we applied an ecological time series study, using generalized additive models with Poisson response, and smoothing splines with 7 degrees of freedom per year as smoothers.<sup>6</sup> For model estimation purposes, the convergence criteria were modified as proposed by Dominici et al.,<sup>6</sup> and the standard errors were calculated using the `gam.exact` function.<sup>22</sup>

Data transformed by the case-crossover-structure approach were analyzed as matched case-control studies, using exact conditional logistic regression<sup>23</sup> generalized to more than one control period, without weighting. We also analyzed these data following a proportional hazards model, with the possibility of recurrent events and time-dependent explanatory variables. We used the Andersen-Gill approach to proportional hazards regression for this purpose.<sup>24-26</sup> This approach deems every observation for every individual an independent unit of analysis, albeit dependent on explanatory variables. Under such conditions there is no guarantee of the efficiency of the estimates. Consequently, standard errors were robustly estimated by grouping jackknife estimates.<sup>26,27</sup>

GLMMs,<sup>28-30</sup> which are an extension of generalized linear models,<sup>31</sup> also were applied to allow for additional sources of variability caused by unobservable random effects. GLMMs describe the relationship between a variable response and covariables in data that are grouped by one or more factors (in case-crossover studies the groupings would be the individuals) and are thus very useful for analyzing longitudinal data, repeated measures or multilevel data. The GLMMs are estimated using the penalized pseudo-likelihood method.<sup>28</sup> Notwithstanding the fact that the estimators of the parameters are consistent and efficient,<sup>29</sup> the estimation of the variance of the fixed effects may be slightly biased.<sup>30</sup>

A binary-response GLMM was constructed including, as fixed effects, the independent term, exposure and individual trend, and as random effect, the independent term. We defined the individual trend as the calendar time of follow-up for each individual, by taking the value of 1 for the first day of follow-up for each such individual and so on successively, until 15. Inclusion of the independent term as a random effect in the GLMM enables the initial heterogeneity among subjects to be controlled for, and its application to a case-crossover design of acute effects of environmental exposures could enable trend and seasonality to be controlled for. Individual trend was included as a fixed effect with the aim of

eliminating any possible confounding due to exposure trend. Similarly, to eliminate the influence of autocorrelation on exposure, the inclusion of a first-order autocorrelation variance structure was evaluated.

Using the S-Plus 6.0 statistical software package (Insightful, Seattle, WA), 1000 replicates were generated and analyzed for each of the scenarios. To ensure that the results of the different scenarios would be comparable, we used the same set of randomization seeds (consisting of the replicate number, ie, 1 to 1000) in all scenarios. The `glmmPQL` function was obtained from the *Venables and Ripley MASS Library* (4th ed.).<sup>32</sup>

### Expression of Results

For each of the simulations, we calculated: (1) the percentage of mean bias with respect to the coefficient's true value,  $(\hat{\beta} - \beta) \cdot 100/\beta$ ; (2) the standard deviation of the coefficients, which in turn enabled us to approximate the dispersion and instability of the estimates of  $\hat{\beta}$ ; (3) the percentage of coverage, which consists of calculating the percentage of replicates that include the true value of the coefficient within their 95% confidence interval (CI). This measure is complementary to bias because even though mean bias is low, if the calculation of the coefficients is very imprecise (great dispersion) the percentage of coverage may well be small. In addition, the percentage of coverage tends to indicate whether the standard errors of the coefficients have been properly calculated. Obviously, percentage coverage must be equal to or higher than 95%; and (4) the percentage of replicates that rejected the null hypothesis. We felt that the measure of coverage should be complemented by an indicator of statistical power, in view of the fact that a very high percentage of coverage could be attained thanks to overestimated standard errors, which result in wide 95% confidence interval and ensuing low statistical power. As is the case with coverage, the best model is that which has the greatest statistical power.

## RESULTS

Figures 1 and 2 set out the simulation conditions. Figure 1A shows the  $PM_{10}$  sequence that was used as an independent variable to generate the replicates. Shown in Figure 1B is the confounding variable with trend and seasonality. Figure 2A is the graph of close autocorrelations (1-30 days) and Figure 2B that of distant autocorrelations (28-364 days, at intervals of 28 days) in respect of  $PM_{10}$ . In Barcelona, the  $PM_{10}$  variable plotted a statistically significant negative trend ( $P < 0.001$ ) of  $-5.96 \cdot 10^{-3}$ . Furthermore, the confounding variable had a correlation of 0.3670 with  $PM_{10}$ .

From Table 1, it can be seen that case-crossover designs (whether symmetric, semi-symmetric or time-stratified) analyzed with conditional logistic regression achieved coverage percentages of around 95%, though with a statistical efficiency that in some cases was half that of time-series

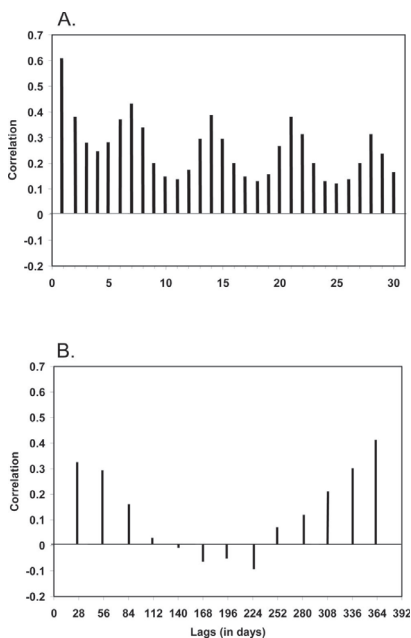


FIGURE 2. Simulation basis. A, Autocorrelation in  $PM_{10}$  series for Barcelona, 1 to 30 days. B,  $PM_{10}$  autocorrelation, 28 to 364 days, at intervals of 28 days.

studies with Poisson regression (23.5 vs. 61.4%). Biases in the case of symmetric and time-stratified designs were higher than in the case of their semisymmetric counterparts and appeared to display a certain sensitivity to seasonal confounding. When case-crossover designs were analyzed by means of survival models, they did not appear to afford any advantage over matched case-control models (data not shown). Yet, when the longitudinal GLMM design was applied, whether full-symmetric or full semisymmetric, this generally ensured attainment of high coverage percentages, a statistical power very much higher than that of conditional logistic regression and time-series studies with Poisson regression, as well as low biases; thus, where the mean number of events was high (22 events/day), full semisymmetric case-crossover designs analyzed with GLMM yielded biases of 7.9%. Furthermore, where the daily mean number of events was low (2/day), full semisymmetric case-crossover designs analyzed as longitu-

dinal studies showed themselves to be very superior to all the remaining models, not only in terms of bias but also in terms of coverage and statistical efficiency.

Table 2 (available with the electronic version of this article) shows the influence exerted by effect magnitude (from 0 to 0.005) and exposure autocorrelation on the estimates of the different models. Semisymmetric case-crossover and time-series studies with Poisson regression models seemed to be least affected by the magnitude of the effect of the pollutant. In general, case-crossover tended to register biases for low coefficient values, except in semisymmetric case-crossover. Whereas full semisymmetric CC model designs analyzed as longitudinal data displayed moderate biases and optimal coverages for coefficient values below 0.003, bias increased and coverages decreased for high coefficients. When data without autocorrelation were applied, a decrease in bias was in evidence across all case-crossover designs, yet the effect was clearer in case-crossover analyzed as longitudinal data, in which bias disappeared for high coefficients.

## DISCUSSION

The results of this simulation study show that longitudinal approaches applied to case-crossover designs may prove useful for analyzing the acute effects of environmental exposures. Specifically, the full semisymmetric case-crossover design analyzed with generalized linear mixed models applied to scenarios with pollutant effect magnitudes similar to those described in the literature<sup>33</sup> displays optimal confidence-interval coverage and high statistical efficiency (very superior to that of case-crossover designs analyzed with conditional logistic regression). When applied to scenarios with magnitudes greater than the real values, however, an underestimate of the effect and a decrease in coverage are in evidence, possibly attributable to the effect of autocorrelation present in the exposure variable.

The greatest advantage of case-crossover designs with respect time-series studies with Poisson regression is that time-variable functions are not needed to control for the effect of unmeasured confounding variables. This leads to an automatically control (by design) of any possible confounders (known and unknown). In turn, this avoids the establishment of degrees of freedom nor implies problems of concurrency. Bateson and Schwartz<sup>8</sup> comment that a price must be paid if case-crossover studies analyzed with conditional logistic regression are to control for trend and seasonality by design and, in addition, are to investigate potential effect modifiers at an individual level. The price referred to lies in the fact that the relative efficiency of semisymmetric case-crossover designs analyzed with conditional logistic regression is only 66% of that of time-series studies with Poisson regression.<sup>8</sup> In our simulations, in which underestimation of standard errors due to concurrency had already been eliminated, time-series studies with Poisson regression were as much as doubly

efficient when compared with case-crossover analyzed with conditional logistic regression. Nevertheless, case-crossover analyzed as longitudinal data can be even more efficient than time-series studies with Poisson regression; thus, in analyzing case-crossover as longitudinal data, one would no longer have to pay the price of efficiency in order for these advantages to be obtained from case-crossover studies.

The principal limitation of the case-crossover design analyzed with generalized linear mixed models is the existence of a sensitivity on the part of the model to autocorrelation present in the pollutant variable. While the effect of autocorrelation on estimates yielded by case-crossover designs analyzed with conditional logistic regression has been studied in depth in previous articles,<sup>5,34</sup> this effect is not yet known in cases where such designs are analyzed as longitudinal studies. Our data indicate that longitudinal case-crossover designs have a greater sensitivity to autocorrelation than case-crossover with conditional logistic regression and that this effect becomes more pronounced in response to a rise in the magnitude of the effect of the pollutant. For coefficients below 0.003 this effect appears to be small, but it rises sharply thereafter, leading to ensuring low coverage. We feel that new studies are needed to identify the control-selection techniques best suited to reducing the effect of autocorrelation where case-crossover are analyzed as longitudinal data, as has already been done in the case of case-crossover designs analyzed with conditional logistic regression.<sup>5,34</sup>

Consideration of case-crossover studies with a longitudinal approach and their analysis with mixed models would afford an additional advantage, namely, multilevel analysis, which allows for joint analysis of many cities and so eliminates the need for application of meta-analysis,<sup>35</sup> pooled analysis<sup>36</sup> or 2-stage hierarchical normal model methodologies.<sup>37</sup> In these multilevel case-crossover models, one level could be the city and another the individual, and intercity heterogeneity could be studied by including it as a random effect. This would enable assessment of: (1) the effect of overall dose-response relationships for all the cities as a whole; (2) the forms of possible interaction between climatological variables and pollutants; and (3) the interactions between individual characteristics on the one hand, and climatological variables and pollutants, on the other, for all cities as a whole. The application of mixed models could also be extended to geographical analyses, with parts of cities being deemed intermediate levels of analysis, and areas of highest risk thus being assessed.

Once the influence of autocorrelation on estimates of very marked effects has been controlled for, case-crossover designs analyzed as longitudinal studies could prove a very good alternative to time-series studies with Poisson regression, in that they may well afford a considerable number of additional advantages. Hence, the effects of pollutants and their dose-response relationships could be more specifically

ascertained in line with the characteristics of individual subjects (eg, previous disease history) or geographic location (specific areas of cities), with optimal statistical power. This could in turn open the way to a new type of public health guideline addressing the health-related effects of air pollution, targeted at specific population groups or areas of cities.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank William Navidi for his advice and guidance on semisymetric case-crossover design and Michael Benedict for his comments on the translation.

#### REFERENCES

1. Sunyer J, Basagana X, Belmonte J, et al. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma. *Thorax*. 2002;57:687-693.
2. Sunyer J, Basagana X. Particles, and not gases, are associated with the risk of death in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Epidemiol*. 2001;30:1138-1140.
3. Kwon HJ, Cho SH, Nyberg F, et al. Effects of ambient air pollution on daily mortality in a cohort of patients with congestive heart failure. *Epidemiology*. 2001;12:413-419.
4. Peters A, Dockery DW, Muller JE, et al. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103:2810-2815.
5. Levy D, Sheppard L, Checkoway H, et al. A case-crossover analysis of particulate matter air pollution and out-of-hospital primary cardiac arrest. *Epidemiology*. 2001;12:193-199.
6. Maclure M. The case-crossover design: a method for studying transient effects on the risk of acute events. *Am J Epidemiol*. 1991;133:144-153.
7. Navidi W. Bidirectional case-crossover designs for exposures with time trends. *Biometrics*. 1998;54:596-605.
8. Bateson TF, Schwartz J. Control for seasonal variation and time trend in case-crossover studies of acute effects of environmental exposures. *Epidemiology*. 1999;10:539-544.
9. Mittleman MA, Maclure M, Robins JM. Control sampling strategies for case-crossover studies: an assessment of relative efficiency. *Am J Epidemiol*. 1995;142:91-98.
10. Marshall RJ, Jackson RT. Analysis of case-crossover designs. *Stat Med*. 1993;12:2333-2341.
11. Greenland S. Confounding and exposure trends in case-crossover and case-time-control designs. *Epidemiology*. 1996;7:231-239.
12. Bateson TF, Schwartz J. Selection bias and confounding in case-crossover analyses of environmental time-series data. *Epidemiology*. 2001;12:654-661.
13. Navidi W, Weinhandl E. Risk set sampling for case-crossover designs. *Epidemiology*. 2002;13:100-105.
14. Borgan O, Langholz B, Samuelsen SO, et al. Exposure stratified case-cohort designs. *Lifetime Data Anal*. 2000;6:39-58.
15. Lumley T, Levy D. Bias in the case-crossover design: implications for studies of air pollution. *Environmetrics*. 2000;11:689-704.
16. Greenland S. A unified approach to the analysis of case-distribution (case-only) studies. *Stat Med*. 1999;18:1-15.
17. Vines SK, Farrington CP. Within-subject exposure dependency in case-crossover studies. *Stat Med*. 2001;20:3039-3049.
18. Diggle PJ, Liang KY, Zeger SL. *Analysis of Longitudinal Data*. Oxford: Oxford University Press; 1994.
19. Verghese J, Lipton RB, Katz MJ, et al. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *N Engl J Med*. 2003;348:2508-2516.
20. Canfield RL, Henderson CR Jr, Cory-Slechta DA, et al. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter. *N Engl J Med*. 2003;348:1517-1526.
21. Figueras A, Sastre I, Tato F, et al. One-to-one versus group sessions to improve prescription in primary care: a pragmatic randomized controlled trial. *Med Care*. 2001;39:158-167.
22. Dominici F, McDermott A, Hastie TJ. Software for computing the asymptotically exact standard errors in GAM. Available at: <http://>

- www.ihpss.jhsph.edu/software/gam.exact/gam.exact.htm; Internet; accessed December 14, 2004.
23. Mehta CR, Patel NR. Exact logistic regression: theory and examples. *Stat Med.* 1995;14:2143–2160.
  24. Andersen PK, Gill RD. Cox's regression model for counting processes: a large sample study. *Ann Stat.* 1982;10:1100–1120.
  25. Barceló MA. Modelos de fragilidad en el análisis multivariante de supervivencia. PhD Dissertation. Girona: Servei de Publicacions, Universitat de Girona; 2001.
  26. Therneau TM, Hamilton SA. rhdNase as an example of recurrent event analysis. *Stat Med.* 1997;16:2029–2047.
  27. Lin DY, Wei LJ. The robust inference for the Cox proportional hazards model. *JAMA.* 1989;84:1074–1078.
  28. Breslow NE, Clayton DG. Approximate inference in Generalized Linear Mixed Models. *J Am Stat Assoc.* 1993;88:9–25.
  29. Wolfinger R, O'Connell M. Generalized linear mixed models: a pseudolikelihood approach. *J Stat Computation Simulation.* 1993;48:233–243.
  30. Saez M. El problema de las medidas repetidas. Análisis longitudinal en epidemiología. *Gac Sanitaria.* 2001;15:347–352.
  31. McCullagh P, Nelder JA. *Generalized Linear Models*. London: Chapman and Hall; 1989.
  32. Venables WN, Ripley BD. *Modern Applied Statistics with S-PLUS*. Oxford: Springer; 1999.
  33. Dominici F, Zeger SL, Samet JM. Combining Evidence on Air Pollution and Daily Mortality from the Largest 20 US cities: a hierarchical modeling strategy. *J Royal Stat Soc A.* 2000;163:263–302.
  34. Checkoway H, Levy D, Sheppard L, et al. A case-crossover analysis of fine particulate matter air pollution and out-of-hospital sudden cardiac arrest. *Health Effects Institute Res Report.* 2000;14–26.
  35. Saez M, Ballester F, Barceló MA, et al. A combined analysis of the short-term effects of photochemical air pollutants on mortality within the EMECAM project. *Environ Health Perspect.* 2002;110:221–228.
  36. Saez M, Figueiras A, Ballester F, et al. Comparing meta-analysis and ecological-longitudinal analysis in time-series studies. A case study of the effects of air pollution on mortality in three Spanish cities. *J Epidemiol Community Health.* 2001;55:423–432.
  37. Dominici F, McDermott A, Zeger SL, et al. On the use of generalized additive models in time-series studies of air pollution and health. *Am J Epidemiol.* 2002;156:193–203.

### **7.3) Allergy 2008; 63: 347–53.**

Carracedo-Martinez E, C. Sánchez C, Taracido M, Saez M, Jato V, Figueiras A. Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain.



## Original article

## Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain

**Background:** A symmetric case-crossover design was used to analyse the short-term relationship between air pollution, pollen and emergency calls to medical services.

**Methods:** This study covered patients who made medical emergency calls in the City of Vigo (Spain) during the period 1996–1999. Morbidity data were obtained from the records of the 061 Medical Emergency Control Center, in its capacity as the body officially coordinating all medical emergencies by telephone. Air pollution data were furnished by the Vigo Municipal Air Pollution Surveillance Grid. Pollen levels were provided by the staff of the Spanish Aerobiology Network in Vigo.

**Results:** A rise of  $10\mu\text{g}/\text{m}^3$  in ambient particulate levels led to the risk of medical emergency calls requesting attention increasing by: (i) 1.97% [95% confidence interval (95% CI): 1.83–2.11%] for circulatory causes on the same day; (ii) 1.95% (95% CI: 1.76–2.14%) for respiratory causes at 2 days and (iii) 1.34% (95% CI: 1.23–1.45%) for combined circulatory and respiratory causes on the same day. A number of pollens displayed a statistically significant relationship with emergency calls. No interaction was in evidence between pollens and air pollutants.

**Conclusions:** While elevations in particulate air pollution increase medical emergency calls because of cardiac or respiratory causes or both combined, elevations in pollen levels increase medical emergency calls because of respiratory causes.

**E. Carracedo-Martínez<sup>1</sup>, C. Sanchez<sup>1</sup>, M. Taracido<sup>1,2</sup>, M. Saez<sup>3</sup>, V. Jato<sup>4</sup>, A. Figueiras<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela, A Coruña; <sup>2</sup>Consorcio for Biomedical Research in Epidemiology & Public Health, CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP); <sup>3</sup>Research Group on Statistics, Applied Economics and Health (GRECS), University of Girona, Girona; <sup>4</sup>Department of Plant Biology and Soil Sciences, University of Vigo, Vigo, Spain

Key words: air pollution; cardiovascular diseases; emergencies; pollen; respiratory tract diseases.

A. Figueiras Guzmán  
Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública  
Facultad de Medicina  
Calle San Francisco s/n  
15 783 Santiago de Compostela  
A Coruña  
Spain

Accepted for publication 28 September 2007

Exposure to air pollution is a potential risk factor for the development of respiratory and cardiovascular disorders (1, 2). Despite efforts to improve the quality of the air, the persistent increase in the fleet of motor vehicles poses a threat to air quality in industrialized countries (3). In urban surroundings, traffic is the main source of emission of fine particulate matter (4), with diesel exhaust emissions in particular accounting for a high percentage of total particles released into the atmosphere. Indeed, it is estimated that diesel produces 10 times more particles than unleaded gasoline (5).

Most studies addressing the relationship between short-term exposure to air pollution and respiratory or circulatory morbidity have relied on Poisson time-series regression to measure hospital admissions or emergency room visits (6, 7). Some researchers have argued that the results of time-series analyses depend, in great measure, on the model employed, something that hinders inter-study comparison (8, 9). An alternative to time-series analysis is case-crossover (CCO) methodology, which has

the advantage of controlling for intrasubject confounding variables and time trends by design rather than by modeling (10).

Although studies have used CCO methodology to study the relationship between air pollutant levels and hospital admissions or emergency room visits (11, 12), this approach has never been used before to measure a relationship of this type with telephone calls requesting emergency medical attention. Furthermore, recent studies indicate that pollen may be associated with an increase in respiratory morbidity (13), but its relationship with medical emergency calls has never been analysed, whether using Poisson time-series or CCO methodology.

Accordingly, this study sought to analyse the relationship between air pollution and pollen levels and medical emergency calls requesting attention for cardiovascular and respiratory causes, among the population of the City of Vigo (Spain) 1996–1999, using a symmetric bidirectional CCO design.

Carracedo-Martinez et al.

## Methods

### Design and settings

A symmetric bidirectional CCO design was used for the purpose of this study (9). In this type of design, only cases are sampled, and estimation of risk is based on comparing intrasubject exposures at the time of the effect ('case' period) with exposures at various points in time when the effect does not occur ('control' period).

This design has a number of advantages over the alternative methods: first, control subjects do not have to be sampled; and secondly, when making intrasubject comparisons, all possible confounders (measured and unmeasured) that remain unchanged between the control and case periods are automatically controlled for by design, as they remain constant for each subject (14). Nevertheless, to prevent estimates being biased by trend and seasonality, control periods must be sampled before and after the effect (14). In our study, we used a symmetric bidirectional CCO design with two control day, one 7 day before and the other 7 day after the event (14). This period was chosen because: (i) it was short enough to minimize selection bias; (ii) it coincided with the weekly pattern of the effect, thereby minimizing any confounding bias and (iii) it was long enough to ensure the absence of autocorrelation (14).

The designated geographic setting was the municipality of Vigo (Spain), a port city situated on the Atlantic Ocean, which has a mild climate with little year-round variation and an important industrial sector. Vigo has a population of approximately 300 000 and an automobile fleet of around 130 000 vehicles.

Vigo's population pyramid is pagoda-shaped, with its mode belonging to the age range from 25 to 30 years. Of the city's total population: 13.16% are aged > 65 years and 52.46% are female. In descending order of importance, the main reasons for hospital admission in the city area – as in most of North-west Spain – are traumas and gastrointestinal, circulatory and respiratory diseases. Data for the period 1996–1999 were analysed (this being the period for which air-pollution data were available).

### Data sources

Air pollution data were furnished by the Vigo Municipal Air Pollution Surveillance Grid (*Red Municipal de Vigilancia de Contaminación Atmosférica*), which has seven semiautomatic monitoring devices deployed throughout the city. Mean 24-h (black smoke) particulate and sulphur dioxide (SO<sub>2</sub>) values were studied. Black smoke was measured by means of the normalized smoke method, using Whatman filtrate paper no. 1, which mainly captures particulates having an aerodynamic diameter of around 4–5 µm. Sulphur dioxide was measured using the Thorina method. The population's daily exposure was estimated using the average of the readings made at the eight manual monitoring stations, in accordance with the methodology employed in the EMECAM project (15). We included the values of stations that registered a percentage of valid data for more than 75% of day across the study period. The missing values of the stations included were calculated with the aid of regression models, using the remaining monitoring stations as explanatory variables, provided, in all cases, that there was a minimum of three valid stations per pollutant.

Meteorological data were obtained from the National Meteorology Institute and the following variables were studied: temperature; atmospheric pressure and relative humidity. The number of weekly cases of influenza, based on reports submitted to the Notifiable Disease Reporting Registry (*Registro de Enfermedades de Declaración Obligatoria*), was supplied by the Epidemiology Department of the Galician Regional Health Authority (*Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia*). The weekly number of cases was

divided by seven to obtain an approximation of daily cases. Pollen levels were provided by the staff of the Spanish Aerobiology Network in Vigo. Using the volumetric method, data were measured at one station located in the city hall. Daily counts of allergenic pollens belonging to the families *Asteraceae*, *Betulaceae* (*alnus*, *betula*, *corylus*), *Cupressaceae*, *Chenopodiaceae*, *Ericaceae*, *Fagaceae* (*castanea*, *quercus*), *Myrtaceae*, *Oleaceae* (*fraxinus*, *olea*), *Pinaceae*, *Plantaginaceae*, *Platanaceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Salicaceae* and *Urticaceae* were considered, as were total grass (*gramineae*) and pollen counts.

Morbidity data were obtained from the records of the 061 Medical Emergency Control Center (*Central de Emergencias Médicas 061*), in its capacity as the body officially coordinating all medical emergencies by telephone. At this control centre, the medical staff tasked with managing emergency telephone traffic, codes all incoming calls as per the International Classification of Diseases, 9th Revision (ICD-9). Medical staff members are required to undergo previous training and pass regular quality controls to ensure the reliability of the database.

### Data analysis

Statistical analysis was performed using conditional logistic regression models. The baseline model was constructed, with these variables introduced in the following order, namely, temperature, humidity and atmospheric pressure – all in terms of averages for the same and preceding day (lag 01) and for 2 and 3 days previously (lag 23) – plus influenza and a binary variable that indicated whether the day was a Sunday or Public Holiday. The combination of the above variables which minimized the Akaike Information Criterion (AIC) was then chosen as the baseline model (16). A series of pollutants or pollens was added to the baseline model to assess the unipollutant or unipollen effect. Only variables that obtained a *P*-value of at least 0.2 in the unipollutant or unipollen model were included in the multipollutant or multipollen models. The estimators for the respective pollutants and pollens were calculated for the same day and for prior exposures of up to 3 day, as well as the averages for lags 01 and 23. Results were expressed as Odds ratios (OR) with their 95% confidence intervals (95% CI).

## Results

A general upward trend was observed for total cardiorespiratory emergencies across the 4 years (see Table 1 and Fig. 1). Broken down by season of the year, means were higher in fall and winter for cardiovascular emergencies (daily means of 4.14 and 3.98, respectively) and in winter for respiratory emergencies (daily mean of 3.22); both decreased in summer, with means of 3.30 and 0.91 respectively. Ambient black-smoke air pollution levels tended to rise over the study period, whilst SO<sub>2</sub> levels, after declining from 1996 and 1997, remained fairly

Table 1. Annual emergency rate per 100 000 population

Year	Cardiovascular	Respiratory	Cardiorespiratory
1996	167	229	397
1997	225	440	665
1998	207	552	759
1999	292	654	946

## Effect of pollution and pollen on emergency calls

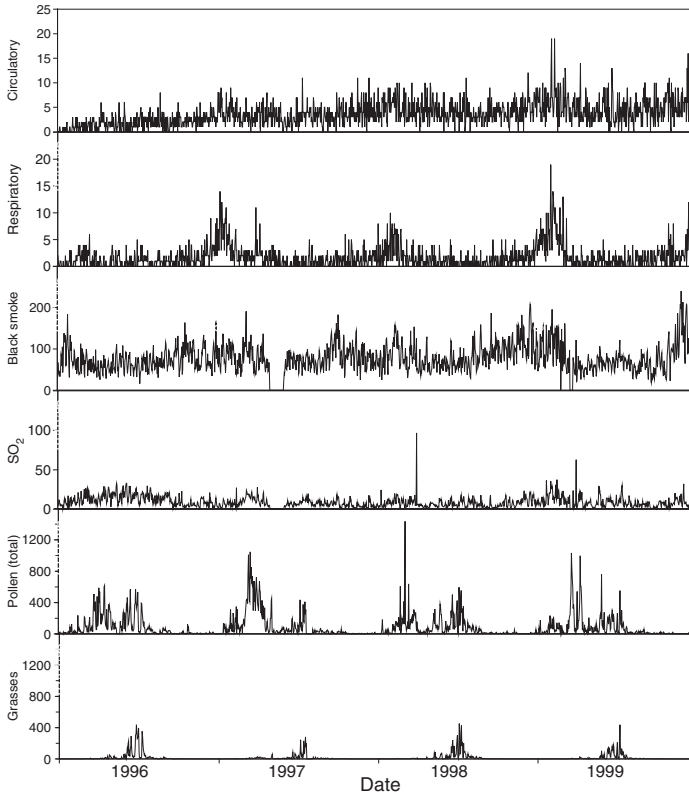


Figure 1. Daily trend in the number of medical emergency calls arising out of circulatory causes (circulatory), respiratory causes (respiratory), black smoke ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) and  $\text{SO}_2$  levels ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) and total pollen and grass counts ( $\text{grains}/\text{m}^3$ ).

constant (see Table 2 and Fig. 1). The mean temperature was  $14.33^\circ\text{C}$ , summer being the hottest season, with a mean of  $19.50^\circ\text{C}$  and winter being the coldest season, with a mean of  $10.20^\circ\text{C}$ . Mean relative humidity was 80.43% and mean atmospheric pressure was 988.23 millibars. Reported cases of influenza followed a seasonal pattern, with higher means in the months of January and February. The pollen time series registered a seasonal pattern, with the highest values in spring for total pollens and in summer for *gramineae* (see Fig. 1).

Table 3 shows the OR and their 95% CI for exposure to each pollutant with respect to medical emergency calls

Table 2. Ambient air pollution levels in the city of Vigo

Variable	Year	Mean $\pm$ SD	Median	Maximum
$\text{SO}_2$ ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	1996	$12.51 \pm 7.04$	11.42	33.14
	1997	$7.80 \pm 4.85$	6.79	27.71
	1998	$7.65 \pm 6.65$	6.30	96.71
	1999	$9.18 \pm 7.21$	7.42	62.85
Particles ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	1996	$71.05 \pm 25.87$	66.85	183.95
	1997	$79.81 \pm 27.34$	77.34	191.00
	1998	$85.51 \pm 33.59$	78.42	208.10
	1999	$80.94 \pm 39.71$	72.28	239.94

SD, standard deviation.

Carracedo-Martinez et al.

Table 3. Odds ratios (OR) and their 95% confidence interval (CI) for exposure to each pollutant with respect to medical emergency calls because of respiratory, cardiovascular and cardiorespiratory causes

	Cardiovascular OR (95% CI)	Respiratory OR (95% CI)	Cardiorespiratory OR (95% CI)
<b>Black smoke (<math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</b>			
Same day	1.002 (1.001–1.003)*	1.001 (0.999–1.002)	1.001 (1.000–1.002)*
1-day lag	0.999 (0.998–1.001)	1.001 (0.999–1.003)	1.000 (0.999–1.001)
2-day lag	1.000 (0.999–1.001)	1.002 (1.000–1.004)*	1.001 (1.000–1.002)
3-day lag	1.000 (0.999–1.002)	1.001 (0.999–1.002)	1.000 (0.999–1.001)
Average days 0 and 1	1.001 (0.999–1.003)	1.000 (0.999–1.004)	1.001 (1.000–1.002)
Average days 2 and 3	1.000 (0.998–1.002)	1.002 (1.000–1.004)	1.001 (0.999–1.002)
<b>SO<sub>2</sub> (<math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</b>			
Same day	1.003 (0.997–1.009)	0.992 (0.981–1.003)	1.002 (0.996–1.007)
1-day lag	0.997 (0.991–1.003)	1.004 (0.994–1.014)	1.000 (0.995–1.006)
2-day lag	0.997 (0.991–1.003)	1.007 (0.997–1.016)	1.001 (0.995–1.002)
3-day lag	0.999 (0.993–1.005)	1.001 (0.992–1.009)	1.000 (0.995–1.005)
Average days 0 and 1	1.001 (0.994–1.008)	0.998 (0.985–1.011)	1.002 (0.985–1.010)
Average days 2 and 3	0.996 (0.989–1.004)	1.005 (0.994–1.015)	1.000 (0.994–1.006)

\*P < 0.05.

arising out of respiratory, cardiovascular and both causes combined. For an increase of 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  in particulate levels, we observed a same day 1.97% (95% CI: 1.83–2.11%) increase in medical emergency calls because of circulatory causes and a 1.34% (95% CI: 1.23–1.45%) increase because of combined causes, whereas at 2 days there was a 1.95% (95% CI: 1.76–2.14%) increase in the number of calls because of respiratory causes. Sulphur dioxide registered no statistically significant effect with any of the causes of morbidity.

Pollen levels showed a relationship with respiratory but not with cardiac diseases. Table 4 shows the OR and their 95% CI for exposure to each pollen with respect to medical emergency calls because of respiratory causes.

The pollens that displayed this relationship were: grasses (same day), birch (3-day lag and average lag of 2 and 3 day), alder (2-day lag), hazel (2-day lag and average lag of 2 and 3 days) and wormseed or chenopodium (*Chenopodium ambrosioides*) (same day). A rise in pollen levels from the 95th to the 99th percentile was associated with the following percentage increases in medical emergency calls: (i) 19.62% (95% CI: 19.32–19.92%) at 2 days for alder in the case of respiratory causes; (ii) 30.56% (95% CI: 30.02–31.10%) at 3 days for birch in the case of respiratory causes, with a 24.97% (95% CI: 24.42–25.52%) average for the second and third days; (iii) 8.70% (95% CI: 5.33–12.18%) at 2 days for hazel in the case of respiratory causes, with a 7.91% (95% CI: 3.28–

Table 4. Odds ratios (OR) and their 95% confidence interval (CI) for exposure to each pollen with respect to medical emergency calls because of respiratory causes

OR (95% CI)	Lags					
	Same day	1-day lag	2-day lag	3-day lag	Average days 0 and 1	Average days 2 and 3
<i>Asteraceae</i>	1.022 (0.916–1.141)	0.982 (0.888–1.086)	1.027 (0.931–1.132)	0.948 (0.857–1.048)	1.000 (0.871–1.148)	0.980 (0.865–1.109)
<i>Alnus</i>	0.998 (0.995–1.001)	1.002 (0.999–1.005)	1.003 (1.001–1.006)*	1.000 (0.997–1.003)	1.001 (0.997–1.004)	1.003 (0.999–1.006)
<i>Betula</i>	1.003 (0.998–1.008)	1.003 (0.998–1.007)	1.003 (0.998–1.007)	1.005 (1.001–1.009)*	1.003 (0.998–1.008)	1.004 (1.000–1.009)*
<i>Corylus</i>	0.993 (0.959–1.029)	1.003 (0.973–1.033)	1.042 (1.010–1.076)*	1.013 (0.978–1.050)	0.998 (0.955–1.042)	1.052 (1.006–1.099)*
<i>Cupressaceae</i>	0.996 (0.991–1.001)	1.004 (0.999–1.008)	1.001 (0.996–1.005)	0.998 (0.993–1.003)	1.001 (0.994–1.006)	0.999 (0.993–1.005)
<i>Chenopodiaceae</i>	1.118 (1.012–1.233)*	0.959 (0.865–1.062)	0.998 (0.905–1.100)	0.970 (0.879–1.070)	1.065 (0.933–1.214)	0.973 (0.857–1.105)
<i>Ericaceae</i>	0.997 (0.980–1.013)	1.012 (0.993–1.030)	1.004 (0.986–1.022)	1.005 (0.984–1.026)	1.005 (0.984–1.026)	1.005 (0.984–1.027)
<i>Castanea</i>	1.001 (0.992–1.009)	0.993 (0.982–1.004)	0.993 (0.982–1.005)	0.993 (0.982–1.005)	0.997 (0.986–1.008)	0.991 (0.977–1.004)
<i>Quercus</i>	1.002 (0.998–1.007)	1.003 (0.998–1.007)	1.002 (0.997–1.006)	1.001 (0.998–1.005)	1.003 (0.998–1.008)	1.002 (0.997–1.006)
<i>Myrtaceae</i>	0.999 (0.986–1.012)	0.997 (0.982–1.011)	1.006 (0.993–1.019)	1.012 (0.999–1.026)	0.997 (0.980–1.014)	1.014 (0.997–1.030)
<i>Fraxinus</i>	0.986 (0.933–1.041)	1.001 (0.957–1.047)	1.000 (0.956–1.046)	1.004 (0.958–1.052)	0.991 (0.930–1.056)	1.003 (0.948–1.061)
<i>Olea</i>	1.003 (0.998–1.008)	0.999 (0.994–1.004)	0.999 (0.995–1.004)	1.001 (0.997–1.004)	1.001 (0.995–1.007)	1.000 (0.995–1.005)
<i>Pinaceae</i>	1.000 (0.999–1.001)	1.000 (0.999–1.001)	1.001 (0.999–1.001)	1.000 (0.999–1.001)	1.000 (0.999–1.002)	1.001 (0.999–1.002)
<i>Plantaginaceae</i>	1.011 (0.996–1.026)	1.008 (0.994–1.022)	0.989 (0.974–1.003)	0.999 (0.986–1.012)	1.013 (0.996–1.030)	0.992 (0.975–1.008)
<i>Platanaceae</i>	1.005 (0.998–1.012)	1.003 (0.995–1.010)	1.000 (0.993–1.007)	1.001 (0.993–1.008)	1.005 (0.997–1.013)	1.000 (0.992–1.008)
<i>Poaceae</i>	1.002 (0.999–1.003)	1.000 (0.998–1.002)	0.999 (0.996–1.001)	1.000 (0.997–1.001)	1.001 (0.999–1.004)	0.999 (0.996–1.001)
<i>Polygonaceae</i>	1.003 (0.992–2.562)	1.082 (0.428–2.738)	0.462 (0.172–1.238)	0.992 (0.349–2.821)	1.085 (0.289–4.072)	0.405 (0.098–1.674)
<i>Salicaceae</i>	1.010 (0.979–1.042)	1.007 (0.969–1.045)	1.012 (0.979–1.045)	1.009 (0.978–1.041)	1.015 (0.971–1.062)	1.018 (0.976–1.061)
<i>Urticaceae</i>	1.000 (0.997–1.002)	0.982 (0.888–1.086)	1.001 (0.999–1.003)	1.000 (0.997–1.002)	0.999 (0.996–1.002)	1.000 (0.999–1.003)
<i>Graminaeae</i>	1.002 (1.000–1.004)*	1.001 (0.999–1.003)	0.999 (0.997–1.001)	1.000 (0.998–1.002)	1.002 (0.999–1.004)	0.999 (0.997–1.002)

\*P < 0.05.

350

## Effect of pollution and pollen on emergency calls

12.75%) average for the second and third days and (iv) 24.91% (95% CI: 13.18–37.85%) and 44.99% (95% CI: 44.73–45.25%) on the same day for chenopodium and *gramineae*, respectively, in the case of respiratory causes.

Joint evaluation of air pollutants and pollen failed to reveal variations in the relationship observed. The possible interaction between pollens and air pollutants was studied but no statistically significant relationship was found.

### Discussion

The results of our study indicate that particulate pollution increases medical emergency calls arising out of respiratory causes, cardiovascular causes or the two combined. Moreover, our results suggest that pollen concentrations increase telephone requests for emergency medical services in the case of respiratory causes.

The effect of air-borne particulate matter on medical emergency calls observed in our study is in line with that reported by Medina et al. (17) in Paris, but contrasts with the study by Hautemanière et al. (18) in Rouen, in which no relationship was encountered. Insofar as SO<sub>2</sub> is concerned, we, unlike the Paris (17) and Rouen (18) studies, observed no relationship with medical emergency calls. A possible explanation for this fact could be that over the study period, SO<sub>2</sub> levels in Vigo were moderate whereas black-smoke levels were very high, to the point of even surpassing those of Athens, the city with the highest levels in the APHEA study (19).

Furthermore, our findings on the relationship between particulate matter and respiratory or cardiovascular morbidity agree with those reported by numerous studies that link pollution to morbidity measured by hospital admissions (20–22). In this regard, we feel that a measure of morbidity based on emergency calls has certain advantages and drawbacks vis-à-vis an admissions-based measure. Thus, the event (call vs admission) depends neither on hospital admission criteria nor on patients' access to hospital, and may be more sensitive to the physiopathological changes that pollution can generate. Against this, there is a greater risk of misclassification in the diagnosis; yet in our opinion, this possible bias is minimized by the inclusion of major disease groups (respiratory, cardiovascular or both).

From a physiological standpoint, our results are coherent with the biological mechanisms put forward to explain that particulates increase respiratory disorders by exacerbating inflammatory mechanisms in the respiratory system (23). Human and animal laboratory-based studies have shown that particulate air pollutants, and diesel air pollution particles in particular, can enhance allergic inflammation and induce the development of allergic immune responses, because of the release of mediators of the allergic and inflammatory response that initiates a cascade, which can culminate in airway inflammation,

mucus secretion, serum leakage into the airways and bronchial smooth muscle contraction (24). Worldwide increases in allergic respiratory disease have been observed, mainly in urban communities (25). Diesel air pollution particles appear to have greater immunological effects in the presence of environmental allergens than they do alone (26). In the case of cardiovascular disorders, this is not entirely established and a number of mechanisms have been proposed, such as increased blood plasma viscosity (27), increased heart rate (28), alterations in heart rate variability (29) or diesel exhaust particle-induced enhancement of coagulatory disturbances (30).

The magnitude of the association between air pollution and the health outcomes observed in our study might be thought very small compared with other pollutants such as tobacco, but it should be borne in mind here that in the latter case, only smokers and, to a lesser extent, passive smokers are exposed. Nonetheless, the entire population is exposed to air pollution, so that the overall result of its effects may be considerable.

In this study, pollen levels were associated with respiratory disease as measured by medical emergency calls. We failed to locate previous studies with a CCO design. To date, only one study has been published, which analyses the causes of medical emergency calls retrospectively: in it, an increase in the number of calls because of pollinosis-related symptoms in the study period was linked to a peak in pollen concentration on these same dates (31). There have been various studies that have reported a relationship between pollen levels and other variables, such as respiratory morbidity or hospital admissions because of respiratory causes in different areas (32). Very few studies reported significant associations between pollen concentrations and/or concentration of individual pollen species and (paediatric) hospital admissions (33, 34). This might be because of geographic differences in allergen levels or the prevalence of allergies (35). Thus, the main Vigo-based pollen types with allergenic capacity used in this study may be different from those of other cities. This is the first study to address the interaction between pollen and air pollutants in terms of medical emergency calls, but no significant interaction was observed.

The mechanism of action whereby pollen exerts effects at the level of the respiratory tree is through allergic-type sensitization of the proteins present in pollens, which provokes an IgE-mediated inflammatory response with a series of physiological changes, such as an increase in eosinophils and neutrophils, exhaled nitric oxide or the number of cells in bronchoalveolar lavage, ultimately leading to clinical conditions affecting the respiratory tree (32, 36).

Several authors have demonstrated a twofold prevalence of pollen disease in urban vs rural environments, even though pollen levels are higher in rural areas (37). An increase in pollen disease incidence has also been observed, which has been attributed by a number of authors to diesel particles in the atmosphere (38, 39). The main mechanism

Carracedo-Martinez et al.

that could explain these observations is the finding that several pollen species can adsorb diesel particles, thus facilitating their entry into the bronchial tree (40).

One limitation of this study is that, given its ecological design, the cause-effect relationship must be interpreted with caution. The limitation posed by using fixed-site air pollution monitors to measure the exposure of the whole population has often been debated (41). It might be thought that important variables (such as tobacco habit or chronic diseases) have not been controlled for, but there is no reason to believe that many of the individual risk factors, such as presence of chronic diseases or smoker status, might be correlated with the daily changes in air pollution levels. Accordingly, these cannot be confounding factors in this study, as a confounding factor must be correlated with both cause and effect.

Case-crossover design has several advantages over Poisson time series, such as controlling for many confounding factors by design rather than by statistical modelling. Yet, one disadvantage of CCO vs Poisson methods is that the former are slightly more inefficient, producing slightly wider OR CI than those of the Poisson time series and so implying a lower statistical power (42). In general, however, CCO designs and Poisson time series with generalized additive models have yielded almost identical results (43-45), so that results are not believed to

depend on the type of design used. Indeed, the fact that an association was found between air pollution and medical emergency calls in this study, despite its having a lower statistical power than the Poisson models, serves to reinforce earlier studies that were undertaken with other methodologies.

In conclusion, this study reveals that there is an increased risk of telephone requests for emergency medical attention in the case of cardiac or respiratory causes in response to a rise in ambient air particulate levels, something that underscores the importance of monitoring these pollutants. A relationship was likewise observed between pollen levels and calls because of respiratory causes, although no interaction between pollen and pollution was found: studies with a larger sample size may possibly be required to study this interaction.

#### Acknowledgments

We would like to express our sincere thanks to the following: the National Health System's Health Research Fund (*Fondo de Investigación Sanitaria - FIS*) for funding this study (00/0010-05); the 061 Medical Emergency Control Center (*Central de Emergencias Médicas 061*) in Galicia (Spain) and Michael Benedict for his help with the English version of this paper.

#### References

- Kaiser J. Mounting evidence indicates fine-particle pollution. *Science* 2005;**307**:1858-1861.
- Cohen AJ, Anderson RH, Ostro B, Pandey KD, Krzyzanowski M, Künzli N et al. The global burden of disease due to outdoor air pollution. *J Toxicol Environ Health A* 2005;**68**:1301-1307.
- Tattersfield AE. Air pollution: brown skies research. *Thorax* 1996;**51**:15-22.
- European Environment Agency. Transport and environment: on the way to a new common transport policy. TERM 2006: indicators tracking transport and environment in the European Union. Copenhagen: EEA Report. No 1. 2007.
- Sydbom A, Blomberg A, Parnia S, Stenfors N, Sandström T, Dahlén SE. Health effects of diesel exhaust emissions. *Eur Respir J* 2001;**17**:733-746.
- Peel JL, Tolbert PE, Klein M, Metzger KB, Flanders WD, Todd K et al. Ambient air pollution and respiratory emergency department visits. *Epidemiology* 2005;**16**:164-174.
- Metzger KB, Tolbert PE, Klein M, Peel JL, Flanders WD, Todd K. Ambient air pollution and cardiovascular emergency department visits. *Epidemiology* 2004;**15**:46-56.
- Moolgavkar S, Luebeck EG, Hall TA, Anderson EL. Air pollution and daily mortality in Philadelphia. *Epidemiology* 1995;**6**:476-484.
- Bateson TF, Schwartz J. Control for seasonal variation and time trend in case-crossover studies of acute effects of environmental exposures. *Epidemiology* 1999;**10**:539-544.
- Maclure M. The case-crossover design: a method for studying transient effects on the risk of acute events. *Am J Epidemiol* 1991;**133**:144-153.
- Boutin-Forzano S, Adel N, Gratecos L, Julian H, Garnier JM, Ramadour M et al. Visits to the emergency room for asthma attacks and short-term variations in air pollution. *Respiration* 2004;**71**:134-137.
- Luginnaah IN, Fung KY, Gorey KM, Webster G, Wills C. Association of ambient air pollution with respiratory hospitalisation in a government-designated 'area of concern': the case of Windsor, Ontario. *Environ Health Perspect* 2005;**113**:290-296.
- Tobias A, Galan I, Banegas JR, Arañuez E. Short term effects of air-borne pollen concentrations on asthma epidemic. *Thorax* 2003;**58**:708-710.
- Bateson TF, Schwartz J. Selection bias in case-crossover analyses of environmental time-series data. *Epidemiology* 2001;**12**:654-661.
- Saez M, Ballester F, Barcelo MA, Perez-Hoyos S, Bellido J, Tenias JM et al. A combined analysis of the short-term effects of photochemical air pollutants on mortality within the EMECAM project. *Environ Health Perspect* 2002;**110**:221-228.
- Figureas A, Cadarso-Suarez C. Application of nonparametric models for calculating odds ratios and their confidence intervals for continuous exposures. *Am J Epidemiol* 2001;**154**:264-275.
- Medina S, Terre A, Quénel P, Le Moullec Y, Lamelot P, Guzzo JC et al. Air pollution and doctors' house calls: results from the ERPURS system for monitoring the effects of air pollution on public health in greater Paris, France, 1991-1995. *Environ Res* 1997;**75**:73-84.
- Hautemanière A, Czernichow P, Germain JM, Delmas V, Falourd JC, Zeghnoun K et al. Impact des variations quotidiennes de la pollution atmosphérique sur l'activité du dispositif d'urgences pré-hospitalières. Etude dans l'agglomération de Rouen. *Rev Epidém Santé Publ* 2000;**48**:449-458.

## Effect of pollution and pollen on emergency calls

19. Spix C, Anderson H, Schwartz J, Vigotti MA, Le Tertre A, Vonk JM et al. Short term effects of air pollution on hospital admissions of respiratory diseases in Europe: a quantitative summary of APHEA study results. *Arch Environ Health* 1998;**53**:54–64.
20. Dominici F, Peng RD, Bell ML, Pham L, McDermott A, Zeger SL et al. Fine particulate air pollution and hospital admission for cardiovascular and respiratory diseases. *JAMA* 2006;**295**: 1127–1134.
21. Le Tertre A, Medina S, Samoli E, Forsberg B, Michelozzi P, Boumghar A et al. Short-term effects of particulate air pollution on cardiovascular diseases in eight European cities. *J Epidemiol Community Health* 2002;**56**:773–779.
22. Atkinson RW, Anderson HR, Sunyer J, Ayres J, Baccini M, Vonk JM et al. Acute effects of particulate air pollution on respiratory admissions: results from APHEA 2 project. *Air Pollution and Health: a European Approach*. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;**164**:1860–1866.
23. Hitzfeld B, Friedrichs KH, Ring J, Behrendt H. Airborne particulate matter modulates the production of reactive oxygen species in human polymorphonuclear granulocytes. *Toxicology* 1997;**120**:185–195.
24. Proietti L, Spicuzza L, Polosa R. Urban air pollution at the crossroads of the allergic pandemic. *Ann Ital Med Int* 2003;**18**:64–72.
25. Riedl M, Díaz-Sánchez D. Biology of diesel exhaust effects on respiratory function. *J Allergy Clin Immunol* 2005;**115**:221–228.
26. Pandya RJ, Solomon G, Kinner A, Balmes JR. Diesel exhaust and asthma: hypotheses and molecular mechanisms of action. *Environ Health Perspect* 2002;**110**(Suppl. 1):103–112.
27. Peters A, Doring A, Wichmann HE, Koenig W. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality. *Lancet* 1997;**349**:1582–1587.
28. Peters A, Perz S, Doring A, Stieber J, Koenig W, Wichmann HE. Increases in heart rate during an air pollution episode. *Am J Epidemiol* 1999;**150**:1094–1098.
29. Gold DR, Litonjua A, Schwartz J, Williams PL, Smith TJ, Christiani DC. Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation* 2000;**101**:1267–1273.
30. Inou K, Takano H, Sakuri M, Oda T, Tamura H, Yanagisawa R. Pulmonary exposure to diesel exhaust particles enhances coagulatory disturbance with endothelial damage and systemic inflammation related to lung inflammation. *Exp Biol Med* (Maywood) 2006;**231**:1626–1632.
31. Bardine M, Viallard MS, Ballotte B, Storme D, Ferracci C, Chalmet CP. Calls to the SAMU centre 15 (emergency medical service centre 15): an indicator of peak pollen concentrations. *Allerg Immunol (Paris)* 2001;**33**:90–97.
32. Portnoy J, Barnes C. Clinical relevance of spore and pollen counts. *Immunol Allergy Clin N Am* 2003;**23**:389–410.
33. Lierl MB, Hornung RW. Relationship of outdoor air quality to pediatric asthma exacerbations. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;**90**:28–33.
34. Zhong W, Levin L, Reponen T, Hershey GK, Adhikari A, Shukla R et al. Analysis of short-term influences of ambient aeroallergens on pediatric asthma hospital visits. *Sci Total Environ* 2006;**370**:330–336.
35. Anderson HR, Ponce de Leon A, Bland JM, Bower JS, Emberlin J, Strachan DP. Air pollution, pollens, and daily admissions for asthma in London 1987–92. *Thorax* 1998;**53**:842–848.
36. Castillo JG, Oehling A, Sanz ML, Gamboa PM. Seasonal influence on serum and receptor-bound IgE in pollenosis. *Ann Allergy* 1990;**64**:542–546.
37. Takafuji S, Nakagawa T. Air pollution and allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2000;**10**:5–10.
38. Parnia S, Frew AJ. Is diesel the cause for the increase in allergic disease?. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;**87**(Suppl. 3):18–23.
39. Kramer U, Koch T, Ranft U, Ring J, Behrendt H. Traffic-related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas. *Epidemiology* 2000;**11**:64–70.
40. Knox RB, Suphiglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Pebg JL et al. Major grass pollen allergen LOL p1 binds to diesel exhaust particles. Implications for asthma and air pollution. *Clin Exp Allergy* 1997;**27**:246–251.
41. Goldberg MS, Burnett R, Bailar JC III, Brook JR, Tammlyn R, Bonvalot Y et al. The association between daily mortality and short-term effects of air particle pollution in Montreal, Quebec. 1. Nonaccidental mortality. *Environ Res* 2001;**86**:12–25.
42. Figueiras A, Carracedo-Martínez E, Saez M, Taracido M. Analysis of case-crossover designs using longitudinal approaches: a simulation study. *Epidemiology* 2005;**16**:239–246.
43. Lee JT, Schwartz J. Reanalysis of the effects of air pollution on daily mortality in Seoul, Korea: a case-crossover design. *Environ Health Perspect* 1999;**107**:633–636.
44. Neas LN, Schwartz J, Dockery D. A case-crossover analysis of air pollution and mortality in Philadelphia. *Environ Health Perspect* 1999;**107**:629–631.
45. Kan H, Chen B. A case-crossover analysis of air pollution and daily mortality in Shanghai. *J Occup Health* 2003;**45**:119–124.



## **8-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Holland WW, Bennet AE, Cameron IR, Florey CV, Leeder SR, Schilling RS, et al. Health effects of particulate pollution: reappraising the evidence. *Am J Epidemiol.* 1979;110:525-659.
2. Logan WPD. Mortality in the London fog incident, 1952. *Lancet.* 1953;264:336-8.
3. Saez M, Perez-Hoyos S, Tobias A, Saurina C, Barceló MA, Ballester F. Métodos de series temporales en los estudios epidemiológicos sobre contaminación atmosférica. *Rev Esp Salud Publica.* 1999;73:133-43.
4. Moolgavkar SH, Luebeck EG, Hall TA, Anderson EL. Air pollution and daily mortality in Philadelphia. *Epidemiology.* 1995;6:476-84.
5. Kelsall JE, Samet JM, Zeger SL, Xu J. Air pollution and mortality in Philadelphia, 1974-1988. *Am J Epidemiol.* 1997;146:750-62.
6. Schwartz J. Air pollution and hospital admissions for heart disease in eight US counties. *Epidemiology.* 1999;10:17-22.
7. Dominici F, McDermott A, Zeger SL, Samet JM. On the use of generalized additive models in time-series studies of air pollution and health. *Am J Epidemiol.* 2002;156:193-203.
8. Saez M, Figueiras A. Re: "Air pollution and mortality in Philadelphia, 1974-1988". *Am J Epidemiol.* 2000;151:106-7.
9. Li Y, Roth HD. Daily mortality análisis by using different regresión models in Philadelphia county, 1973-1990. *Inhalation Toxicol.* 1997;7:45-58.
10. Sunyer J, Basagana X, Belmonte J, Anto JM. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma. *Thorax.* 2002 ;57:687-93.
11. Sunyer J, Basagana X. Particles, and not gases, are associated with the risk of death in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1138-40.
12. Kwon HJ, Cho SH, Nyberg F, Pershagen G. Effects of ambient air pollution on daily mortality in a cohort of patients with congestive heart failure. *Epidemiology.* 2001;12:413-9.
13. Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation.* 2001;103:2810-5.

14. Levy D, Sheppard L, Checkoway H, Kaufman J, Lumley T, Koenig J, et al. A case-crossover analysis of particulate matter air pollution and out-of-hospital primary cardiac arrest. *Epidemiology*. 2001;12:193-9.
15. Maclure M. The case-crossover design: a method for studying transient effects on the risk of acute events. *Am J Epidemiol*. 1991;133:144-53.
16. Navidi W. Bidirectional case-crossover designs for exposures with time trends. *Biometrics*. 1998;54:596-605.
17. Bateson TF, Schwartz J. Control for seasonal variation and time trend in case-crossover studies of acute effects of environmental exposures. *Epidemiology*. 1999;10:539-44.
18. Navidi W, Weinhandl E. Risk set sampling for case-crossover designs. *Epidemiology*. 2002;13:100-5.
19. Dominici F, McDermott A, Hastie TJ. Software for computing the asymptotically exact standard errors in GAM. Disponible en: [http://www.ihapss.jhsph.edu /software/ gam.exact/gam.exact.htm](http://www.ihapss.jhsph.edu/software/gam.exact/gam.exact.htm); Internet; accedido el 14 de diciembre de 2004.
20. Mehta CR, Patel NR. Exact Logistic Regression: Theory and Examples. *Stat Med*. 1995;14:2143-60.
21. Andersen PK, Gill RD. Cox's regression model for counting processes: a large sample study. *Ann Stat*. 1982;10:1100-20.
22. Barceló MA. Modelos de fragilidad en el análisis multivariante de supervivencia. Tesis doctoral. Girona: Servei de publicacions, Universitat de Girona; 2001.
23. Therneau TM, Hamilton SA. rhDNase as an example of recurrent event analysis. *Stat Med*. 1997;16:2029-47.
24. Lin DY, Wei LJ. The robust inference for the Cox proportional hazards model. *JAMA*. 1989;84:1074-78.
25. Breslow NE, Clayton DG. Approximate inference in Generalized Linear Mixed Models. *JAMA*. 1993;88:9-25.
26. Wolfinger R, O'Connell M. Generalized linear mixed models: a pseudolikelihood approach. *J Stat Computation Simulation*. 1993;48:233-43.
27. Saez M. El problema de las medidas repetidas. Análisis longitudinal en epidemiología. *Gac Sanit*. 2001;15:347-52.
28. McCullagh P, Nelder JA. *Generalized Linear Models*. Londres: Chapman and Hall, 1989.
29. Venables WN, Ripley BD. *Modern Applied Statistics with S-PLUS*, Oxford: Springer, 1999.

30. Bateson TF, Schwartz J. Selection bias in case-crossover analyses of environmental time-series data. *Epidemiology*. 2001;12:654-61.
31. Saez M, Ballester F, Barcelo MA, Perez-Hoyos S, Bellido J, Tenias JM et al. A combined analysis of the short-term effects of photochemical air pollutants on mortality within the EMECAM project. *Environ Health perspect*. 2002;110:221-28.
32. Figueiras A, Cadarso-Suarez C. Application of nonparametric models for calculating odds ratios and their confidence intervals for continuous exposures. *Am J Epidemiol*. 2001;154:264-75.
33. Lu Y, Symons JM, Geyh AS, Zeger SL. An approach to checking case-crossover analyses based on equivalence with time-series methods. *Epidemiology*. 2008;19:169-75.
34. Maclure M, Mittleman MA. Case-crossover designs compared with dynamic follow-up designs. *Epidemiology*. 2008;19:176-8.
35. Lu Y, Zeger SL. On the equivalence of case-crossover and time series methods in environmental epidemiology. *Biostatistics*. 2007;8:337-44.
36. Peters A, von Klot S, Berglind N, Hörmann A, Löwel H, Nyberg F, et al. Comparison of different methods in analyzing short-term air pollution effects in a cohort study of susceptible individuals. *Epidemiol Perspect Innov*. 2006;3:10.
37. Janes H, Sheppard L, Lumley T. Case-crossover analyses of air pollution exposure data: referent selection strategies and their implications for bias. *Epidemiology*. 2005;16:717-26.
38. Mittleman MA. Optimal referent selection strategies in case-crossover studies: a settled issue. *Epidemiology*. 2005;16:715-6.
39. Kunzli N, Schindler C. Case-crossover studies. *Epidemiology*. 2005;16:592-3.
40. Kunzli N, Schindler C. A call for reporting the relevant exposure term in air pollution case-crossover studies. *J Epidemiol Community Health*. 2005;59:527-30.
41. Figueiras A, Carracedo-Martinez E, Saez M, Taracido M. Analysis of case-crossover designs using longitudinal approaches: a simulation study. *Epidemiology*. 2005;16:239-46.
42. Janes H, Sheppard L, Lumley T. Overlap bias in the case-crossover design, with application to air pollution exposures. *Stat Med*. 2005;24:285-300.
43. Hajat S. Commentary: Comparison of time series and case-crossover analyses of air pollution and hospital admission data. *Int J Epidemiol*. 2003;32:1071.

44. Fung KY, Krewski D, Chen Y, Burnett R, Cakmak S. Comparison of time series and case-crossover analyses of air pollution and hospital admission data. *Int J Epidemiol.* 2003;32:1064-70.
45. Jaakkola JJ. Case-crossover design in air pollution epidemiology. *Eur Respir J Suppl.* 2003;40:81s-5s.
46. Sheppard L, Levy D, Checkoway H. Correcting for the effects of location and atmospheric conditions on air pollution exposures in a case-crossover study. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2001;11:86-96.
47. Levy D, Lumley T, Sheppard L, Kaufman J, Checkoway H. Referent selection in case-crossover analyses of acute health effects of air pollution. *Epidemiology.* 2001;12:186-92.
48. Lumley T, Levy D. Bias in the case-crossover design: implications for studies of air pollution. *Environmetrics.* 2000;11:689-704.
49. Lee JT, Kim H, Schwartz J. Bidirectional case-crossover studies of air pollution: bias from skewed and incomplete waves. *Environ Health Perspect.* 2000;108:1107-11.
50. Navidi W, Thomas D, Langholz B, Stram D. Statistical methods for epidemiologic studies of the health effects of air pollution. *Res Rep Health Eff Inst.* 1999;(86):1-50.
51. Marshall RJ, Jackson RT. Analysis of case-crossover designs. *Stat Med.* 1993;12:2333-41.
52. Stafoggia M, Schwartz J, Forastiere F, Perucci CA; SISTI Group. Does temperature modify the association between air pollution and mortality? A multicity case-crossover analysis in Italy. *Am J Epidemiol.* 2008;167:1476-85.
53. Son JY, Cho YS, Lee JT. Effects of air pollution on postneonatal infant mortality among firstborn infants in Seoul, Korea: case-crossover and time-series analyses. *Arch Environ Occup Health.* 2008;63:108-13.
54. Ljungman PL, Berglind N, Holmgren C, Gadler F, Edvardsson N, Pershagen G, et al. Rapid effects of air pollution on ventricular arrhythmias. *Eur Heart J.* 2008;29:2894-901.
55. Carracedo-Martinez E, Sanchez C, Taracido M, Saez M, Jato V, Figueiras A. Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain. *Allergy.* 2008;63:347-53.
56. Tecer LH, Alagha O, Karaca F, Tuncel G, Eldes N. Particulate matter (PM(2.5), PM(10-2.5), and PM(10)) and children's hospital admissions for asthma and respiratory diseases: a bidirectional case-crossover study. *J Toxicol Environ Health A.* 2008;71:512-20.

57. Pope CA 3rd, Renlund DG, Kfoury AG, May HT, Horne BD. Relation of heart failure hospitalization to exposure to fine particulate air pollution. *Am J Cardiol.* 2008;102:1230-4.
58. Lee IM, Tsai SS, Ho CK, Chiu HF, Wu TN, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for congestive heart failure: are there potentially sensitive groups? *Environ Res.* 2008;108:348-53.
59. Laurent O, Pedrono G, Segala C, Filleul L, Havard S, Deguen S, et al. Air pollution, asthma attacks, and socioeconomic deprivation: a small-area case-crossover study. *Am J Epidemiol.* 2008;168:58-65.
60. Yang CY. Air pollution and hospital admissions for congestive heart failure in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A.* 2008;71:1085-90.
61. Xu X, Zborowski JV, Arena VC, Rager J, Talbott EO. Case-crossover analysis of air pollution and cardiorespiratory hospitalizations: using routinely collected health and environmental data for tracking: science and data. *J Public Health Manag Pract.* 2008;14:569-76.
62. Perez L, Tobias A, Querol X, Künzli N, Pey J, Alastuey A, et al. Coarse particles from Saharan dust and daily mortality. *Epidemiology.* 2008;19:800-7
63. Jalaludin B, Khalaj B, Sheppard V, Morgan G. Air pollution and ED visits for asthma in Australian children: a case-crossover analysis. *Int Arch Occup Environ Health.* 2008;81:967-74.
64. Ségala C, Poizeau D, Mesbah M, Willems S, Maidenberg M. Winter air pollution and infant bronchiolitis in Paris. *Environ Res.* 2008;106:96-100.
65. Henrotin JB, Besancenot JP, Bejot Y, Giroud M. Short-term effects of ozone air pollution on ischaemic stroke occurrence: a case-crossover analysis from a 10-year population-based study in Dijon, France. *Occup Environ Med.* 2007;64:439-45.
66. Kim SY, O'Neill MS, Lee JT, Cho Y, Kim J, Kim H. Air pollution, socioeconomic position, and emergency hospital visits for asthma in Seoul, Korea. *Int Arch Occup Environ Health.* 2007;80:701-10.
67. Villeneuve PJ, Chen L, Rowe BH, Coates F. Outdoor air pollution and emergency department visits for asthma among children and adults: A case-crossover study in northern Alberta, Canada. *Environmental Health.* 2007;6:40 doi:10.1186/1476-069X-6-40.
68. Maynard D, Coull BA, Gryparis A, Schwartz J. Mortality risk associated with short-term exposure to traffic particles and sulphates. *Environ Health Perspect.* 2007;115:751-55.

69. Johnston FH, Bailie RS, Pilotto LS, Hanigan IC. Ambient biomass smoke and cardio-respiratory hospital admissions in Darwin, Australia *BMC Public Health* 2007;7:240 doi:10.1186/1471-2458-7-240.
70. Peel JL, Metzger KB, Klein M, Flanders WD, Mulholland JA, Tolbert PE. Ambient air pollution and cardiovascular emergency department visits in potentially sensitive groups. *Am J Epidemiol.* 2007;165:625-33.
71. Forastiere F, Stafoggia M, Tasco C, Picciotto S, Agabiti N, Cesaron G, et al. Socioeconomic status, particulate air pollution, and daily mortality: differential exposure or differential susceptibility. *Am J Ind Med.* 2007;50:208-16.
72. Lee IM, Tsai SS, Chang CC, Ho CK, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for chronic obstructive pulmonary disease in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol.* 2007;19:393-8.
73. Yang CY, Chen CC, Chen CY, Kuo HW. Air pollution and hospital admissions for asthma in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health.* 2007;70:111-7.
74. Yang CY, Chen CJ. Air pollution and hospital admissions for chronic obstructive pulmonary disease in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health.* 2007;70:1214-9.
75. Lee IM, Tsai SS, Chang CC, Ho CK, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for chronic obstructive pulmonary disease in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol.* 2007;19:393-8.
76. Cheng MF, Tsai SS, Wu TN, Chen PS, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for pneumonia in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *Journal Toxicol Environ Health.* 2007; 70:2021-6.
77. Hinwood AL, De Klerk N, Rodríguez C, Jacoby P, Runnion T, Rye P, et al. The relationship between changes in daily air pollution and hospitalizations in Perth, Australia 1992-1998: A case-crossover study. *Internacional. Int J Environ Health Res.* 2006;16:27-46.
78. Rich DQ, Kim MH, Turner JR, Mittleman MA, Schwartz J, Catalana PJ, et al. Association of ventricular arrhythmias detected by implantable cardioverter defibrillator and ambient air pollutants in the St Louis, Missouri metropolitan area. *Occup Environ Med.* 2006;63:591-6.
79. Tsai SS, Chen CC, Hisieh HJ, Chang CC, Yang CY. Air pollution and post-neonatal mortality in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol.* 2006;18:185-9.
80. Tsai SS, Cheng M, Chiu H, Wu T, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for asthma in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *Inhal Toxicol.* 2006;18:549-54.

81. Karr C, Lumley T, Shepherd K, Davis R, Larson T, Ritz B, et al. A case-crossover study of wintertime ambient air pollution and infant bronchiolitis. *Environ Health Perspect.* 2006;114:277-81.
82. Wellenius GA, Schwartz J, Mittleman MA. Particulate air pollution and hospital admissions for congestive heart failure in seven United States cities. *Am J Cardiol.* 2006;97:404-8.
83. Rich DQ, Mittleman MA, Link MS, Schwartz J, Luttmann-Gibson H, Catalana PJ, et al. Increased risk of paroxysmal atrial fibrillation episodes associated with acute increases in ambient air pollution. *Environ Health Perspect.* 2006;114:120-3.
84. Medina-Ramón M, Zanobetti A, Schwartz J. The effect of ozone and PM10 on hospital admissions for pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease: A national multicity study. *Am J Epidemiol.* 2006;163:579-88.
85. Zeka A, Zanobetti A, Schwartz J. Individual-level modifiers of the effects of particulate matter on daily mortality. *Am J Epidemiol.* 2006;163:849-59.
86. Symons JM, Wang L, Guayar E, Howell E, Dominici F, Schwab M, et al. A case-crossover study of fine particulate matter air pollution and onset of congestive heart failure symptom exacerbation leading to hospitalization. *Am J Epidemiol.* 2006;164:421-33.
87. Villeneuve PJ, Chen L, Stieb D, Rowe BH. Associations between outdoor air pollution and emergency department visits for stroke in Edmonton, Canada. *Eur J Epidemiol.* 2006;21:689-700.
88. Yang CY, Hsieh HJ, Tsai S-S, Wu TN, Chiu HF. Correlation between air pollution and postneonatal mortality in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *J Toxicol Environ Health.* 2006;69:2033-40.
89. Pope CA 3rd, Muhlestein JB, May HT, Renlund DG, Anderson JL, Horne BD. Ischemic heart disease events triggered by short-term exposure to fine particulate air pollution. *Circulation.* 2006;114:2443-8.
90. Peters A, von Klot S, Heier M, Trentinaglia I, Cyrus J, Hörmann A, et al. Particulate air pollution and nonfatal cardiac events. Part I. Air pollution, personal activities, and onset of myocardial infarction in a case-crossover study. *Res Rep Health Eff Inst.* 2005;(124):1-66
91. Wellenius GA, Schwartz J, Mittleman MA. Air pollution and hospital admissions for ischemic and hemorrhagic stroke among medicare beneficiaries. *Stroke.* 2005;36:2549-53.
92. Zeka A, Zanobetti A, Schwartz J. Short term effects of particulate matter on cause specific mortality: effects of lags and modification by city characteristics. *Occup Environ Med.* 2005;62:718-25.

93. Zanobetti A, Schwartz J. The effect of particulate air pollution on emergency admissions for myocardial infarction: a multicity case-crossover analysis. *Environ Health Perspect.* 2005;113:978-82.
94. Lin M, Stieb DM, Chen Y. Coarse particulate matter and hospitalization for respiratory infections in children younger than 15 years in Toronto: a case-crossover analysis. *Pediatrics.* 2005 ;116:e235-40.
95. Rich DQ, Schwartz J, Mittleman MA, Link M, Luttmann-Gibson H, Catalano PJ, et al. Association of short-term ambient air pollution concentrations and ventricular arrhythmias. *Am J Epidemiol.* 2005;161:1123-32.
96. Wellenius GA, Bateson TF, Mittleman MA, Schwartz J. Particulate air pollution and the rate of hospitalization for congestive heartfailure among medicare beneficiaries in Pittsburgh, Pennsylvania. *Am J Epidemiol.* 2005;161:1030-6.
97. Barnett AG, Williams GM, Schwartz J, Neller AH, Best TL, Petroeschevsky AL, et al. Air pollution and child respiratory health: a case-crossover study in Australia and New Zealand. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:1272-8.
98. Luginaah IN, Fung KY, Gorey KM, Webster G, Wills C. Association of ambient air pollution with respiratory hospitalization in a government-designated "area of concern": the case of Windsor, Ontario. *Environ Health Perspect.* 2005;113:290-6.
99. Chang CC, Tsai SS, Ho SC, Yang CY. Air pollution and hospital admissions for cardiovascular disease in Taipei, Taiwan. *Environ Res.* 2005;98:114-9.
100. Ruidavets JB, Cournot M, Cassadou S, Giroux M, Meybeck M, Ferrieres J. Ozone air pollution is associated with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2005;111:563-9.
101. Sullivan J, Sheppard L, Schreuder A, Ishikawa N, Siscovick D, Kaufman J. Relation between short-term fine-particulate matter exposure and onset of myocardial infarction. *Epidemiology.* 2005;16:41-8.
102. Romieu I, Ramirez-Aguilar M, Moreno-Macias H, Barraza-Villarreal A, Millar P, Hernandez-Cadena L, et al. Infant mortality and air pollution: modifying effect by social class. *J Occup Environ Med.* 2004;46:1210-6.
103. Schwartz J. How sensitive is the association between ozone and daily deaths to control for temperature?. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:627-31.
104. Schwartz J. The effects of particulate air pollution on daily deaths: a multi-city case crossover analysis. *Occup Environ Med.* 2004;61:956-61.
105. Filleul L, Rondeau V, Cantagrel A, Dartigues JF, Tessier JF. Do subject characteristics modify the effects of particulate air pollution on daily mortality among the elderly? *J Occup Environ Med.* 2004;46:1115-22.

106. Rich KE, Petkau J, Vedal S, Brauer M. A case-crossover analysis of particulate air pollution and cardiac arrhythmia in patients with implantable cardioverter defibrillators. *Inhal Toxicol.* 2004;16:363-72.
107. Bateson TF, Schwartz J. Who is sensitive to the effects of particulate air pollution on mortality? A case-crossover analysis of effect modifiers. *Epidemiology.* 2004;15:143-9.
108. Schwartz J. Is the association of airborne particles with daily deaths confounded by gaseous air pollutants? An approach to control by matching. *Environ Health Perspect.* 2004;112:557-61.
109. Boutin-Forzano S, Adel N, Gratecos L, Jullian H, Garnier JM, Ramadour M, et al. Visits to the emergency room for asthma attacks and short-term variations in air pollution. A case-crossover study. *Respiration.* 2004;71:134-7.
110. Yang CY, Chang CC, Chuang HY, Tsai SS, Wu TN, Ho CK. Relationship between air pollution and daily mortality in a subtropical city: Taipei, Taiwan. *Environ Int.* 2004;30:519-23.
111. Yang CY, Chen YS, Yang CH, Ho SC. Relationship between ambient air pollution and hospital admissions for cardiovascular diseases in kaohsiung, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A.* 2004;67:483-93.
112. Kan H, Chen B. A case-crossover analysis of air pollution and daily mortality in Shanghai. *J Occup Health.* 2003;45:119-24.
113. Sullivan J, Ishikawa N, Sheppard L, Siscovick D, Checkoway H, Kaufman J. Exposure to ambient fine particulate matter and primary cardiac arrest among persons with and without clinically recognized heart disease. *Am J Epidemiol.* 2003;157:501-9.
114. Tsai SS, Goggins WB, Chiu HF, Yang CY. Evidence for an association between air pollution and daily stroke admissions in Kaohsiung, Taiwan. *Stroke.* 2003;34:2612-6.
115. D'Ippoliti D, Forastiere F, Ancona C, Agabiti N, Fusco D, Michelozzi P, et al. Air pollution and myocardial infarction in Rome: a case-crossover analysis. *Epidemiology.* 2003;14:528-35.
116. Tsai SS, Huang CH, Goggins WB, Wu TN, Yang CY. Relationship between air pollution and daily mortality in a tropical city: Kaohsiung, Taiwan. *J Toxicol Environ Health A.* 2003;66:1341-9.
117. Lin M, Chen Y, Burnett RT, Villeneuve PJ, Krewski D. Effect of short-term exposure to gaseous pollution on asthma hospitalisation in children: a bi-directional case-crossover analysis. *J Epidemiol Community Health.* 2003;57:50-5.

118. Yang Q, Chen Y, Shi Y, Burnett RT, McGrail KM, Krewski D. Association between ozone and respiratory admissions among children and the elderly in Vancouver, Canada. *Inhal Toxicol.* 2003;15:1297-308.
119. Lin M, Chen Y, Burnett RT, Villeneuve PJ, Krewski D. The influence of ambient coarse particulate matter on asthma hospitalization in children: case-crossover and time-series analyses. *Environ Health Perspect.* 2002;110:575-81.
120. Sunyer J, Basagana X, Belmonte J, Anto JM. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma. *Thorax.* 2002;57:687-93.
121. Sunyer J, Basagana X. Particles, and not gases, are associated with the risk of death in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1138-40.
122. Kwon HJ, Cho SH, Nyberg F, Pershagen G. Effects of ambient air pollution on daily mortality in a cohort of patients with congestive heart failure. *Epidemiology.* 2001;12:413-9.
123. Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation.* 2001;103:2810-5.
124. Levy D, Sheppard L, Checkoway H, Kaufman J, Lumley T, Koenig J, et al. A case-crossover analysis of particulate matter air pollution and out-of-hospital primary cardiac arrest. *Epidemiology.* 2001;12:193-9.
125. Sunyer J, Schwartz J, Tobias A, Macfarlane D, Garcia J, Anto JM. Patients with chronic obstructive pulmonary disease are at increased risk of death associated with urban particle air pollution: a case-crossover analysis. *Am J Epidemiol.* 2000;151:50-6.
126. Checkoway H, Levy D, Sheppard L, Kaufman J, Koenig J, Siscovick D. A case-crossover analysis of fine particulate matter air pollution and out-of-hospital sudden cardiac arrest. *Res Rep Health Eff Inst.* 2000;(99):5-28
127. Lee JT, Schwartz J. Reanalysis of the effects of air pollution on daily mortality in Seoul, Korea: A case-crossover design. *Environ Health Perspect.* 1999;107:633-6.
128. Neas LM, Schwartz J, Dockery D. A case-crossover analysis of air pollution and mortality in Philadelphia. *Environ Health Perspect.* 1999;107:629-31.
129. Ramsay TO, Burnett RT, Krewski D. The effect of concurvity in generalized additive models linking mortality to ambient particulate matter. *Epidemiology.* 2003;14:18-23.
130. Zeger SL, Dominici F, McDermott A, Samet JM. Mortality in the Medicare Population and Chronic Exposure to Fine Particulate Air Pollution in Urban Centers (2000–2005). *Environ Health Perspect.* 2008;116:1614–19.

131. Andrews C, Buist S, Chaitman B, Hackney J, Rom W, Samet J, et al. Guidelines as to What Constitutes and Adverse Respiratory Health Effect, with Special Reference to Epidemiologic Studies of Air Pollution. *Am Rev Respir Dis.* 1985;13:666-668.
132. Dominici F, Zeger SL, Samet JM. Combining Evidence on Air Pollution and Daily Mortality from the Largest 20 US cities: A Hierarchical Modeling Strategy. *J R Stat Soc [Ser A].* 2000;163:263-302.
133. Saez M, Ballester F, Barcelo MA, Perez-Hoyos S, Bellido J, Tenías JM, et al. A combined analysis of the short-term effects of photochemical air pollutants on mortality within the EMECAM project. *Environ Health Perspect.* 2002;110:221-8.
134. Saez M, Figueiras A, Ballester F, Perez-Hoyos S, Ocana R, Tobias A. Comparing meta-analysis and ecological-longitudinal analysis in time-series studies. A case study of the effects of air pollution on mortality in three Spanish cities. *J Epidemiol Community Health.* 2001;55:423-32.
135. Medina S, Tertre A, Quénel P, Le Moullec Y, Lameloise P, Guzzo JC et al. Air pollution and doctor's house calls: results from the ERPURS System for monitoring the effects of air pollution on public health in greater Paris, France, 1991-1995. *Environ Res.* 1997;75:73-84.
136. Hautemanière A, Csernichow P, Germain JM, Delmas V, Falourd JC, Zeghnoun K et al. Impact des variations quotidiennes de la pollution atmosphérique sur l'activité du dispositif d'urgences pré-hospitalières. Étude dans l'agglomération de Rouen. *Rev Epidém Santé Publ.* 2000;48:449-58.
137. Spix C, Anderson H, Schwartz J, Vigotti MA, Le Tertre A, Vonk JM et al. Short term effects of air pollution on hospital admissions of respiratory diseases in Europe: a quantitative summary of APHEA study results. *Arch Environ Health.* 1998;53:54-64.
138. Dominici F, Peng RD, Bell ML, Pham L, McDermott A, Zeger SL et al. Fine particulate air pollution and hospital admission for cardiovascular and respiratory diseases. *JAMA.* 2006;295:1127-34.
139. Le Tertre A, Medina S, Samoli E, Forsberg B, Michelozzi P, Boumghar A et al. Short-term effects of particulate air pollution on cardiovascular diseases in eight European cities. *J Epidemiol Community Health.* 2002;56:773-9.
140. Atkinson RW, Anderson HR, Sunyer J, Ayres J, Baccini M, Vonk JM et al. Acute effects of particulate air pollution on respiratory admissions: results from APHEA 2 project. *Air pollution and health: a European approach.* *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1860-6.
141. Hitzfeld B, Friedrichs KH, Ring J, Behreudt H. Airborne particulate matter modulates the production of reactive oxygen species in human polymorphonuclear granulocytes. *Toxicology.* 1997; 120:185-95.

142. Proietti L, Spicuzza L, Polosa R. Urban air pollution at the crossroads of the allergic pandemic. *Ann Ital Med Int.* 2003;18:64-72.
143. Riedl M, Diaz-Sanchez D. Biology of diesel exhaust effects on respiratory function. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:221-8.
144. Pandya RJ, Solomon G, Kinner Balmes JR. Diesel exhaust and hypotheses and molecular mechanisms of action. *Environ Health Perspect.* 2002;110(Suppl. 1):103-12.
145. Peters A, Doring A, Wichmann HE, Koenig W. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality. *Lancet.* 1997;349:1582-7.
146. Peters A, Perz S, Doring A, Stieber J, Koenig W, Wichmann HE. Increases in heart rate during an air pollution episode. *Am J Epidemiol.* 1999;150:1094-8.
147. Gold DR, Litonjua A, Schwatz J, Williams PL, Smith TJ, Christiani DC. Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation.* 2000;101:1267-73.
148. Inou K, Takano H, Sakuri M, Oda T, Tamura H, Yanagisawa R. Pulmonary exposure to diesel exhaust particles enhances coagulatory disturbance with endothelial damage and systemic inflammation related to lung inflammation. *Exp Biol Med (Maywood).* 2006;231:1626-32.
149. Bardine M, Viillard MS, Ballotte B, Storme D, Ferracci C, Chalmet CP. Calls to the SAMU centre 15 (emergency medical service centre 15): an indicator of peak pollen concentrations. *Allerg Immunol(Paris).* 2001;33: 90-7.
150. Portnoy J, Barnes C. Clinical relevance of spore and pollen counts. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2003;23:389-410.
151. Lierl MB, Hornung RW. Relationship of outdoor air quality to pediatric asthma exacerbations. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90:28-33.
152. Zhong W, Levin L, Reponen T, Hershey GK, Adhikari A, Shukla R et al. Analysis of short-term influences of ambient aeroallergens on pediatric asthma hospital visits. *Sci Total Environ.* 2006;370:330-6.
153. Anderson HR, Ponce de Leon A, Bland JM, Bower JS, Emberlin J, Strachan DP. Air Pollution, pollens, and daily admissions for asthma in London 1987-92. *thorax.* 1998;53:842-8.
154. Castillo JG, Oehling A, Sanz ML, Gamboa PM. Seasonal influence on serum and receptor-bound IgE in pollinosis. *Ann Allergy.* 1990;64:542-6.
155. Takafuji S, Nakagawa T. Air pollution and allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2000;10:5-10.
156. Parnia S, Frew AJ. Is diesel the cause for the increase in allergic disease?. *Ann Allergy Asthma immunol.* 2001;87(Suppl. 3):18-23.

157. Kramer U, Koch T, Ranft U, Ring J, Behrendt H. Traffic-related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas. *Epidemiology*. 2000;11:64-70.
158. Knox RB, Suphioglu C, Taylor P, Desai R, Watson HC, Pebg JL et al. Major grass pollen allergen Lol p1 binds to diesel exhaust particles. Implications for asthma and air pollution. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:246-51.
159. Goldberg MS, Burnett R, Bailar JC III, Brook J, Bonvalot Y, Tamblyn R, et al. 2001. The association between daily mortality and short-term effects of air particle pollution in Montreal, Quebec. 1. Nonaccidental mortality. *Environ Res*. 2001;86:12-25.