

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

**“Estudio de la fauna Acarológica del polvo de colchón en la provincia de Alicante. Cuantificación inmunoquímica de sus alérgenos, reactividad cruzada e implicación clínica en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes alérgicos a los ácaros”**

Tesis para la obtención del grado de Doctor por la  
Universidad Miguel Hernández

Presentado por el licenciado D. Ángel Ferrer Torres  
Elche, 2004

Dirigido por los doctores

D. Enrique Fernández-Caldas Rodríguez

D. Juan Custardoy Olabarrieta

D. Enrique Fernández-Caldas Rodríguez, Doctor en Farmacia por la Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, Académico de la Real Academia Nacional de Farmacia y Director de Investigación y Desarrollo de Laboratorios LETI, S.L.

Y

D. Juan Custardoy Olabarrieta, Doctor en Medicina por la Universidad de Valencia, Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital Vega Baja de Orihuela, Alicante

**CERTIFICAN:**

Que el trabajo titulado “Estudio de la fauna Acarológica del polvo de colchón en la provincia de Alicante. Cuantificación inmunoquímica de sus alérgenos, reactividad cruzada e implicación clínica en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes alérgicos a los ácaros” ha sido realizado bajo nuestra dirección por el licenciado en Medicina y Cirugía y especialista en Alergología Don Ángel Ferrer Torres, considerando que reúne las condiciones exigibles para optar al grado de DOCTOR.

Para que conste, expedimos esta certificación en Alicante, 30 de septiembre de 2004.

Director

Director

Dr. D. Enrique Fernández-Caldas Rodríguez

Dr. D. Juan Custardoy Olabarrieta

## AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Doctor Enrique Fernández-Caldas Rodríguez y Doctor Juan Custardoy Olavarrieta, por su inestimable ayuda, apoyo, estímulo y amistad.

Al Doctor Víctor Iraola Calvo, que pacientemente y con dedicación ha colaborado y asesorado en la lectura y clasificación de las especies de ácaros del polvo en las muestras, en las determinaciones “*in vitro*” y en el diseño de esta tesis.

Al Dr. Jerónimo Carnés por su colaboración y asesoramiento en las técnicas *in vitro*.

A las enfermeras Doña Cristina Plaza, Carmen Orozco, y Rosa Maria Martín que participaron en la realización de las provocaciones nasales.

A mi compañera alergóloga Doña Carmen Andréu Balaguer, que me ha apoyado en la realización de este trabajo.

A Javier Castelló por su amistad y ayuda en este proyecto.

A los laboratorios LETI, y a su Departamento de I+D, que han puesto los medios y el apoyo necesario para la realización de esta tesis.

**A mis hijos Pablo, Laura  
y Arturo**





**“Estudio de la fauna Acarológica del polvo de colchón  
en la provincia de Alicante. Cuantificación  
inmunoquímica de sus alergenios, reactividad cruzada  
e implicación clínica en el diagnóstico y tratamiento  
de los pacientes alérgicos a los ácaros”**

# ÍNDICE



## ÍNDICE

I.	ABREVIATURAS.....	1
II.	JUSTIFICACIÓN.....	3
III.	INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	6
	A. Taxonomía de los ácaros.....	10
	1. Subclase Acari.....	12
	B. Morfología básica de los ácaros.....	15
	C. Principales grupos de ácaros que se encuentran en las casas.....	20
	D. Biología de los ácaros domésticos.....	26
	1. Respiración.....	26
	2. Sistema digestivo y alimentación.....	26
	3. Ciclo de vida.....	26
	4. Características morfológicas de los distintos estadios.....	27
	5. Reproducción.....	28
	6. Factores que influyen en las poblaciones de ácaros.....	29
	a) Factores bióticos.....	29
	b) Factores abióticos.....	30
	E. Distribución y abundancia de los ácaros en las casas.....	32
	F. Aislamiento y preparación de muestras de ácaros.....	34
	1. Recolección de polvo doméstico.....	34
	2. Preparación de las muestras y separación de las muestras.....	35
	a) Método de suspensión.....	35
	b) Método de flotación.....	36
	3. Montaje de preparaciones para microscopía óptica.....	37
	4. Cuantificación de alérgenos de ácaros en muestras de polvo.....	38
	G. Alérgenos de los ácaros.....	39
	H. Reactividad cruzada entre los alérgenos de los ácaros.....	43
	I. Control ambiental de los ácaros del polvo.....	45
IV.	OBJETIVOS.....	48
V.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	50
	A. Estudio de una población de pacientes alérgicos de Alicante.....	51
	1. Características de los pacientes estudiados.....	51
	2. Pruebas cutáneas.....	52
	B. Recogida y análisis de las muestras de polvo.....	54
	1. Separación, montaje e identificación de especies de ácaros.....	56
	C. Determinación de alérgenos mayores Der p 1 y Der f 1.....	58
	D. Determinación de la IgE específica mediante ELISA.....	61
	E. Estudio de la reactividad cruzada entre los ácaros por inhibición de ELISA.....	62
	F. Características de los extractos de ácaros usados en este estudio.....	63
	1. Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	64
	2. Inmunoblot.....	67
	G. Pruebas de provocación nasal y bronquial.....	68
	1. Provocaciones nasales.....	68
	2. Provocaciones bronquiales.....	70
	H. Métodos estadísticos.....	72
VI.	RESULTADOS.....	73
	A. Prevalencia de alergia a los ácaros en Alicante.....	74
	1. Prevalencia de sensibilización a distintas especies de ácaros por prueba cutánea.....	74

B.	Mapa Acarológico de Alicante.....	78
1.	Resultados cualitativos.....	78
2.	Resultados cuantitativos.....	79
3.	Comparación de la fauna acarológica entre pacientes alérgicos y controles.....	80
4.	Comparación de la fauna acarológica en muestras recogidas en la costa o en el Interior.....	82
5.	Análisis estadístico de los resultados.....	85
6.	Descripción de las principales especies encontradas.....	86
C.	Niveles de Der p 1 y Der f 1 en las muestras estudiadas.....	102
1.	Análisis estadístico de los resultados.....	104
2.	Especies de ácaros y niveles de Der p 1 y Der f 1 en colchones de pacientes con dos residencias (costa e interior).....	105
D.	Determinación de la IgE específica a los ácaros.....	107
E.	Estudio de la reactividad cruzada entre los ácaros.....	115
F.	Caracterización de los extractos de ácaros usados en este estudio.....	117
1.	Electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	117
2.	Inmunoblot.....	118
H.	Provocaciones nasales y bronquiales con ácaros en pacientes alérgicos.....	119
1.	Provocaciones nasales.....	119
2.	Provocaciones bronquiales.....	123
VII.	DISCUSIÓN.....	124
VII.	CONCLUSIONES.....	143
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	147



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> División general de las partes del cuerpo de los ácaros.....	16
<b>Figura 2.</b> Aspecto típico de una pata de un ácaro.....	17
<b>Figura 3.</b> <i>A. siro</i> macho en vista ventral.....	18
<b>Figura 4.</b> Vista lateral de <i>A. siro</i> hembra.....	19
<b>Figura 5.</b> Características anatómicas principales de los Pyroglyphidae.....	21
<b>Figura 6.</b> Características anatómicas principales de los Acaridae.....	22
<b>Figura 7.</b> Características anatómicas principales de los Glycyphagidae.....	23
<b>Figura 8.</b> Características anatómicas principales de los <i>Cheyletus eruditus</i> .....	24
<b>Figura 9.</b> Características anatómicas principales de los <i>Tarsonemus granarius</i> .....	25
<b>Figura 10.</b> Situación de las localidades donde se realizó el estudio.....	54
<b>Figura 11.</b> Aspiradora modificada utilizada para recoger muestras de polvo.....	55
<b>Figura 12.</b> Filtro acoplado a la aspiradora.....	55
<b>Figura 13.</b> Rinomanómetro Datospir-164.....	69
<b>Figura 14.</b> Relación entre las poblaciones de <i>D. pteronyssinus</i> y <i>D. farinae</i> .....	86
<b>Figura 15.</b> <i>D. pteronyssinus</i> .....	88
<b>Figura 16.</b> <i>D. farinae</i> .....	89
<b>Figura 17.</b> <i>E. Maynei</i> .....	90
<b>Figura 18.</b> <i>B. tropicalis</i> .....	91
<b>Figura 19.</b> <i>L. destructor</i> .....	92
<b>Figura 20.</b> <i>G. domesticus</i> .....	93
<b>Figura 21.</b> <i>C. Arcuatus</i> .....	94
<b>Figura 22.</b> <i>T. putrescentiae</i> .....	95
<b>Figura 23.</b> <i>Histiostoma feroniarum</i> .....	96
<b>Figura 24.</b> <i>Cheyletus eruditus</i> .....	97
<b>Figura 25.</b> <i>Cheyletus tenuipilis</i> .....	98
<b>Figura 26.</b> <i>Tarsonemus</i> sp.....	99

<b>Figura 27.</b> <i>Cosmochthonius (Haplochtonius) simplex</i> .....	100
<b>Figura 28.</b> Paciente con determinación de IgE específica positivas para todos los ácaros determinados <i>in vitro</i> .....	112
<b>Figura 29.</b> Paciente con determinación de IgE específica positivas para la familia Pyroglyphidae.....	113
<b>Figura 30.</b> Paciente con determinación de IgE específica positivas para la <i>B. tropicalis</i> y <i>T. putrescentiae</i>	113
<b>Figura 31.</b> Paciente con determinación de IgE específica positivas para la familia Pyroglyphidae y <i>L. destructor</i> .....	114
<b>Figura 32.</b> Estudio de ELISA inhibición de los ácaros más comúnmente encontrados frente a <i>D. pteronyssinus</i> .....	115
<b>Figura 33.</b> SDS-PAGE de los principales ácaros encontrados en las muestras de polvo.....	117
<b>Figura 34.</b> Inmunoblot de los principales ácaros de las muestras de polvo recogidas en Alicante.....	118



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Posición taxonómica de los ácaros responsables de alergia respiratoria.....	11
<b>Tabla II.</b> Distribución de los ácaros del polvo doméstico más frecuentes.....	20
<b>Tabla III.</b> Tamaños de ácaros en micras, de las principales especies.....	28
<b>Tabla IV.</b> Temperatura y humedad crítica de equilibrio óptimas para el crecimiento de determinados ácaros.....	31
<b>Tabla V.</b> Alergenos de los ácaros del grupo <i>Dermatophagoides</i> spp.....	41
<b>Tabla VI.</b> Alergenos de los ácaros diferentes a <i>Dermatophagoides</i> spp.....	42
<b>Tabla VII.</b> Total de muestras de polvo recogidas y su procedencia.....	56
<b>Tabla VIII.</b> Anticuerpos monoclonales utilizados en la determinación de Der p 1 y Der f 1.....	58
<b>Tabla IX.</b> Prevalencia de pruebas cutáneas positivas a las distintas especies de ácaros.....	74
<b>Tabla X.</b> Porcentajes de sensibilización a las distintas especies de ácaros entre costa e interior.....	76
<b>Tabla XI.</b> Porcentajes de sensibilización entre las distintas familias de ácaros en general y entre costa e interior.....	77
<b>Tabla XII.</b> Prevalencia a las distintas especies de ácaros.....	78
<b>Tabla XIII.</b> Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de la provincia de Alicante.....	79
<b>Tabla XIV.</b> Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de pacientes alérgicos a los ácaros.....	80
<b>Tabla XV.</b> Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de pacientes no alérgicos a los ácaros.....	81
<b>Tabla XVI.</b> Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas de la costa.....	82
<b>Tabla XVII.</b> Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas del interior.....	83
<b>Tabla XVIII.</b> Frecuencia (%) de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas de pacientes alérgicos y no alérgicos residentes en la costa y en el interior.....	84
<b>Tabla XIX.</b> Niveles de alergen del Grupo 1 en el total de las muestras.....	102
<b>Tabla XX.</b> Niveles de alergen del Grupo 1 en muestras de polvo de la costa.....	102
<b>Tabla XXI.</b> Niveles de alergen del Grupo 1 en muestras de polvo del interior.....	102

<b>Tabla XXII.</b> Niveles de alergenos del Grupo 1 en muestras procedentes de pacientes alérgicos a los ácaros.....	103
<b>Tabla XXIII.</b> Niveles de alergenos del Grupo 1 en muestras procedentes de pacientes no alérgicos a los ácaros.....	103
<b>Tabla XXIV.</b> Niveles de Derp I en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente.....	103
<b>Tabla XXV.</b> Niveles de Der f 1 en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente.....	103
<b>Tabla XXVI.</b> Niveles de los alergenos del Grupo 1 en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente.....	104
<b>Tabla XXVII.</b> Prevalencia de <i>Dermatophagoides</i> spp. en individuos con dos residencias, en costa e interior.....	106
<b>TABLA XXVIII.</b> Sensibilización a las distintas especies de ácaros, <i>in vitro</i> .....	107
<b>TABLA XXIX.</b> Porcentajes de sensibilización a las distintas especies de ácaros, <i>in vitro</i> .....	109
<b>TABLA XXX.</b> Valores de IgE específica de los distintos sueros para las distintas especies de ácaros...	109
<b>TABLA XXXI.</b> Comparación por test de Bonferroni de los valores de IgE directa entre los diferentes ácaros del polvo.....	111
<b>TABLA XXXII.</b> Coeficientes de correlación lineal entre las densidades ópticas de las determinaciones de IgE a las diferentes especies de ácaros.....	111
<b>TABLA XXXIII.</b> Coeficiente de regresión en relación con la cantidad de alergeno necesaria para inhibir el 50%.....	116
<b>Tabla XXXIV.</b> Resultados de las provocaciones nasales, prueba cutánea e IgE específica.....	119
<b>Tabla XXXV.</b> Concentraciones de alergenos de ácaros del polvo que presentaron provocación nasal positiva.....	119
<b>Tabla XXXVI</b> Provocaciones nasales con <i>D. pteronyssinus</i> y <i>D. farinae</i> en relación con los valores de IgE <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .....	120
<b>Tabla XXXVII,</b> Provocaciones nasales con <i>L. destructor</i> frente a <i>Dermatophagoides</i> spp en relación con los valores de IgE <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .....	121
<b>Tabla XXXVIII,</b> Provocaciones nasales con <i>T. putrescentiae</i> frente a <i>Dermatophagoides</i> spp en relación con los valores de IgE <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .....	122
<b>Tabla XXXIX,</b> Provocaciones bronquiales con <i>D. pteronyssinus</i> en pacientes sensibilizados a <i>D. pteronyssinus</i> y <i>D. farinae</i> .....	123



## **I. ABREVIATURAS**



<i>A. siro</i>	<i>Acarus siro</i>
<i>B. tropicalis</i>	<i>Blomia tropicalis</i>
<i>C. arcuatus</i>	<i>Chortoglyphus arcuatus</i>
<i>D. farinae</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>
<i>D. pteronyssinus</i>	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
Der p 1	Alergeno de <i>D. pteronyssinus</i> con actividad cisteína proteasa
Der f 1	Alergeno de <i>D. farinae</i>
<i>E. maynei</i>	<i>Euroglyphus maynei</i>
<i>G. domesticus</i>	<i>Glycyphagus domesticus</i>
<i>L. destructor</i>	<i>Lepidoglyphus destructor</i>
<i>T. putrescentiae</i>	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>
ELISA	Del inglés <i>Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay</i>
FEV <sub>1</sub>	Del inglés <i>Forced Expiratory Volume in 1 second</i>
HCE	Humedad crítica de equilibrio
HEP	Del inglés “ <i>Histamine Equivalent in Prick-test</i> ”. Unidad de potencia biológica alérgica <i>in vivo</i> de los extractos alérgicos. Un extracto alérgico tiene una potencia de 10 HEPs cuando produce en la piel de pacientes sensibilizados una pápula de igual tamaño que la producida por diclorohidrato de histamina a 10 mg/ml.
IgE	Inmunoglobulina E
kDa	kilo Daltons
MG	Media geométrica
PBS	Solución tampón fosfatos con solución salina
PC <sub>20</sub>	Concentración de alérgeno inhalado que produce un descenso del 20% del FEV <sub>1</sub>

## II. JUSTIFICACIÓN



Durante mucho tiempo se había venido atribuyendo al polvo de casa un carácter alergénico importante y responsable de un gran número de alergias respiratorias. La importancia de estas manifestaciones alérgicas hizo que el polvo doméstico (suelo, colchones, alfombras, moquetas, mantas, sofás, y edredones) fuese estudiado minuciosamente por diferentes investigadores en un intento de identificar los componentes responsables de su efecto alérgico. Kern en 1921<sup>1</sup> se refiere por primera vez a la importancia del polvo casero en las manifestaciones alérgicas. En 1922, Cooke<sup>2</sup> especula sobre la existencia en el polvo de casa de un alérgeno de naturaleza y origen desconocido y prepara extractos para estudios de desensibilización. Posteriormente, en 1924 Storm Van Leeuwen<sup>3</sup> asocia el fenómeno alérgico del polvo a determinadas circunstancias climáticas al observar mejorías clínicas espectaculares cuando los enfermos se trasladaban a climas de alta montaña con humedades relativas bajas.

El descubrimiento ocasional de ácaros en el polvo de casa fue señalado por diferentes investigadores en varias ocasiones. La presencia en el polvo de casa de ácaros del género *Dermatophagoides* fue indicada por primera vez en 1964 por Oshima<sup>4</sup>. Pero son Voorhorst y Spieksma en 1964<sup>5</sup>, quienes demuestran que el polvo de casa contiene una gran cantidad de ácaros con un alto poder alergénico. Fain en 1966<sup>6</sup>, identifica al ácaro *D. pteronyssinus* como el principal responsable de la alergia respiratoria inducida por la inhalación del polvo de casa.

Por lo tanto, el descubrimiento de la relación causa-efecto entre la sensibilización a ácaros y el asma es relativamente reciente, aproximadamente 40 años. En estos años se han producido avances importantes en la identificación y caracterización de los alérgenos de los ácaros y se han purificado y secuenciado muchos de ellos. Igualmente, se ha avanzado en la estandarización de extractos alérgicos de varias especies de ácaros para el diagnóstico y tratamiento, y se ha demostrado la eficacia clínica de la inmunoterapia usando extractos de varias especies de ácaros.

La alergia a ácaros es un problema de salud mundial reconocido por la OMS, que afecta a millones de personas en todo el mundo. Los síntomas de la alergia a ácaros incluyen asma, rinitis, conjuntivitis y dermatitis atópica. Estudios en diferentes poblaciones demuestran que entre el 70% y el 90% de los pacientes asmáticos están sensibilizados a

ácaros<sup>7</sup>. Este porcentaje es muy elevado en regiones tropicales, donde existe un alto grado de exposición a alérgenos de ácaros de una manera continua.

La predisposición genética es también un condicionamiento fundamental para la susceptibilidad a padecer enfermedades alérgicas. No obstante, estas enfermedades no podrían manifestarse en ausencia de factores ambientales. Entre estos factores, la exposición a alérgenos del medio ambiente es de primordial importancia. Igualmente se ha demostrado que la exposición a concentraciones altas de alérgenos durante los primeros años de vida, aumenta el riesgo de padecer asma alérgica<sup>8</sup>.

Durante el segundo Taller Internacional sobre Alérgenos de los ácaros del polvo y Asma<sup>9</sup>, se introdujo el término "Ácaros Domésticos" para englobar a todas las especies de ácaros de vida libre que se encuentran regularmente en camas, almohadas, armarios y polvo de las casas.

En España existe un conocimiento limitado de la fauna acarológica, a pesar de que existe un alto porcentaje de pacientes sensibilizados a los ácaros, sobre todo en las zonas costeras húmedas y en las islas. En Alicante existe una alta prevalencia de alergia a los ácaros, pero se desconoce la fauna acarológica de esta provincia. Por lo tanto, y para responder una serie de preguntas importantes desde el punto de vista clínico, decidimos emprender este proyecto para identificar las especies más importantes de ácaros en la provincia, para cuantificar los niveles de alérgenos a los que están expuestos nuestros pacientes y para verificar si las especies identificadas son responsables, o no, de patología alérgica respiratoria. Igualmente, estudiamos la reactividad cruzada entre las especies de ácaros identificadas, lo que nos permitió tener una información y un conocimiento más real de la importancia relativa de la sensibilización a las distintas especies encontradas. El resultado de las provocaciones nasales y bronquiales nos ha permitido establecer la importancia clínica de varias especies ácaros en los pacientes alérgicos estudiados. Toda esta información es muy útil para el diagnóstico y tratamiento del paciente alérgico que presenta sensibilización a los ácaros.

### **III. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**



La etiología de las alergias respiratorias, principalmente el asma y las rinitis alérgicas, ya se sospechaba desde que en 1698, Floyer<sup>10</sup> indicó que la inhalación del polvo era uno de los principales factores desencadenantes. Sin embargo, no fue hasta el siglo XX cuando Kern en 1921<sup>1</sup>, Cooke en 1922<sup>2</sup> y Storm van Leuven en 1924<sup>3</sup> confirmaron, gracias a pruebas cutáneas, la presencia de alérgenos en el polvo de casa.

El papel esencial de los ácaros del polvo en las alergias respiratorias fue sugerido en 1928 por Dekker<sup>11</sup>, al detectar la presencia de un gran número de ácaros sin identificar en el polvo doméstico. Este investigador también demostró que los pacientes mejoraban al reducir su contacto con los ácaros. En 1944, Carter et al.<sup>12</sup> describieron bajo el nombre de "Acariasis Pulmonar" un síndrome asmático atribuido a la presencia de ácaros en los pulmones. No obstante, la confirmación del papel que juegan los ácaros en la patología alérgica respiratoria no se produce hasta 1964, cuando Voorhost et al.<sup>5</sup> demuestran la acción determinante de un ácaro (*D. pteronyssinus*) en la alergia al polvo doméstico, al comprobar que extractos de ácaros producían la misma respuesta cutánea en individuos con presunta alergia, que los extractos del polvo. Además sugirió que la potencia alérgica de dichos extractos era directamente proporcional al contenido en ácaros. Esta idea ha sido confirmada a nivel mundial por Miyamoto et al.<sup>13</sup>, Bullock et al.<sup>14</sup> y Kawai et al.<sup>15</sup>. Según Virchow et al.<sup>16</sup>, el 90% de las alergias al polvo doméstico están causadas por los ácaros.

Por lo tanto, la naturaleza alérgica del polvo doméstico, a pesar de su composición heterogénea, se debe principalmente a los alérgenos de los ácaros y sus metabolitos, aunque también están presentes alérgenos secundarios procedentes de animales domésticos, hongos, escamas humanas, insectos, etc.

Chapman<sup>17</sup> estima que la exposición a los ácaros por parte de personas sensibilizadas (prueba cutánea positiva con una pápula de diámetro superior a 5 x 5 mm ó a la presencia de 20 ng/ml de IgE específica en suero) es un factor de riesgo significativo para el desarrollo del asma. Así mismo, sugiere que los individuos predispuestos genéticamente se sensibilizan a los ácaros si se exponen a ciertos niveles de sus alérgenos y, progresivamente, desarrollarán la enfermedad alérgica si continúa la exposición. Se ha acordado internacionalmente que niveles superiores a 2 µg del alérgeno Der p 1 por gramo de polvo representan un factor de riesgo importante para la sensibilización atópica, mientras que niveles superiores o iguales a 10 µg de Der p 1 por gramo de polvo

representan un riesgo mayor para la sensibilización y para desencadenar crisis asmáticas<sup>18</sup>. Además, en este taller sobre ácaros, se consideró el asma y la exposición a ácaros como un problema de índole mundial.

Hoy en día, está aceptado que numerosas especies de ácaros pueden producir sensibilización y manifestaciones alérgicas respiratorias. Una lista de estas especies se encuentra en la Tabla I. Las especies más importantes de ácaros desde el punto de vista alergológico en Europa han sido descritas recientemente por Fernández-Caldas<sup>19</sup>.

Existen pocos datos sobre la fauna Acarológica en España y en la Comunidad Valenciana. En la experiencia clínica se observa un aumento de la patología respiratoria alérgica en los últimos años. En el año 2001 realizamos un estudio preliminar de la fauna acarológica de los colchones de pacientes sensibilizados a ácaros del polvo en la provincia de Alicante. Comprobamos que los ácaros principales eran *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. El ácaro *D. pteronyssinus* se encontró en el 66,7% de las muestras analizadas, mientras que *D. farinae* se observó en el 57,6% de las muestras de colchón recolectadas en los hogares<sup>20</sup>. Otros ácaros, como *G. domesticus* y *E. maynei* presentes en el 6,1 % de las muestras y *T. putrescentiae* y *B. tropicalis* en el 3%, se identificaron en menor proporción, aunque en algunos casos, y debido a las características microclimáticas de algunas viviendas con un alto contenido en humedad ambiental, alcanzaron niveles importantes y potencialmente sensibilizantes. Estos hallazgos preliminares nos animaron a ampliar el estudio, aumentar la zona de muestreo y valorar la importancia clínica que la sensibilización de estas especies podría tener en los sujetos que residen en las viviendas estudiadas.

Igualmente determinamos los niveles de los alérgenos de los *Dermatophagoides*, Der p 1 y Der f 1. Der p 1 se detectó con mayor frecuencia en las muestras recolectadas en las casas de la costa (57,1%) mientras que Der f 1 se observó en el 28,6% del total de las muestras. Sin embargo, en las muestras recogidas en las casas del interior, se observó lo opuesto, Der f 1 predominaba en el 61,1% de las muestras mientras que Der p 1 se halló en el 37,3%.

Igualmente, realizamos un estudio de inmunoterapia en el que comprobamos la eficacia de este tratamiento cuando se seleccionan bien los pacientes y la composición de los extractos alérgicos<sup>21,22</sup>. Se seleccionó un grupo de pacientes asmáticos con



sensibilización a ácaros. Se realizaron pruebas cutáneas con extractos estandarizados de *D. pteronyssinus* y *D. farinae* y todos los pacientes fueron positivos para estos 2 alérgenos. Se recogieron los escores de sintomatología, tratamiento realizado y escala visual a nivel basal y durante la realización de tratamiento con inmunoterapia para *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. Para la selección de los extractos alérgenos nos basamos en la composición de la fauna acarológica encontrada en la región y los resultados de las pruebas cutáneas. Tras 6 meses de tratamiento, se valoró la respuesta clínica y se observó una mejoría significativa en los escores de sintomatología y en la escala visual, así como una reducción significativa en el consumo de fármacos para el asma. También determinamos una mayor tolerancia frente a *D. pteronyssinus* en los pacientes tratados, precisando estos pacientes un incremento de 4 veces la concentración media necesaria para producir un descenso del flujo pulmonar ( $PC_{20}FEV_1$ ) que los pacientes controles sin tratamiento sin inmunoterapia.

En Alicante, muchos pacientes sensibilizados a especies de *Dermatophagoides* por prueba cutánea también presentan sensibilización a otras especies de ácaros. Para valorar la importancia de estas sensibilizaciones cutáneas estudiamos los diversos patrones de sensibilización de estos pacientes tanto *in vivo* como *in vitro*, con el fin de determinar que ácaros sensibilizaban a la población en nuestro medio, así como para valorar si estos patrones se correspondían con alérgenos comunes responsables de reactividad cruzada.

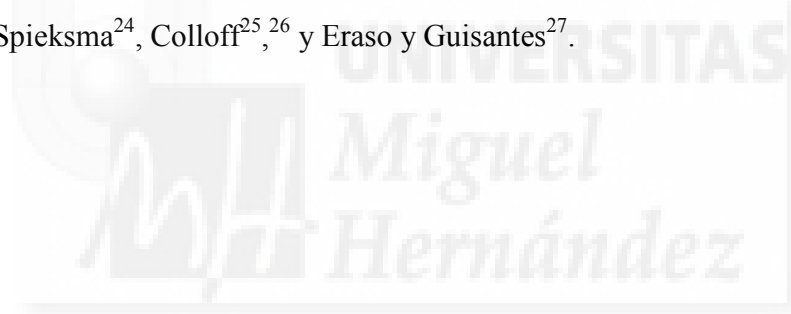
La exposición de nuestros pacientes a distintas especies de ácaros con poder sensibilizante nos planteó valorar la importancia e implicación clínica que pudieran tener otros ácaros menos frecuentes que los *Dermatophagoides* spp. en el desarrollo de la patología respiratoria en nuestra zona. Por ello, planteamos el desarrollo de pruebas específicas de provocación nasal con otras especies de ácaros como *L. destructor* y *T. putrescentiae* en pacientes sensibilizados también a *Dermatophagoides* spp. Con ello, pretendíamos conocer la respuesta específica *in vivo* a estos ácaros, saber si producían clínica respiratoria, y valorar si su sensibilización se debía a la exposición a los mismos, o como reconocimiento de reactividad cruzada entre alérgenos comunes.

## **A. Taxonomía de los ácaros**

Una de las fuentes de aeroalergenos más abundantes en la naturaleza son los artrópodos, ya que comprenden a más del 75% de las especies animales conocidas en nuestro planeta. El nombre de este Phylum deriva de las palabras griegas *arthros*, "articulación", y *podos* "pies", haciendo referencia a la presencia de apéndices articulados, siendo también características de importancia la presencia de exoesqueleto, simetría bilateral y cuerpo segmentado. El exoesqueleto da forma, protección y obliga a que los representantes de este *phylum* muden varias veces a lo largo de su ciclo biológico para permitir su crecimiento.

La sensibilización a ácaros es relevante no sólo por su asociación con enfermedades como asma, rinitis o dermatitis atópica, sino también por el alto porcentaje de la población que está sensibilizada a ellos. Se estima que en áreas de clima tropical o subtropical aproximadamente el 30% de la población está sensibilizada a ácaros<sup>23</sup>.

En la tabla I se representa una división simplificada del Phylum Arthropoda, adaptada de Spieksma<sup>24</sup>, Colloff<sup>25, 26</sup> y Eraso y Guisantes<sup>27</sup>.



**TABLA I. Posición taxonómica de los ácaros responsables de alergia respiratoria.**

Phylum	Clase	Subclase	Superorden	Orden	Familia	Genero	Especie	
Arthropoda	Crustacea Insecta	Scorpiones Opiliones Aranea	Anactinotrichida (Parasitiformes)	Notostigmata	Opilioacaridae			
				Holothyridia	Holothyridae			
	Aracnida	Acari		Actinotrichida (Acariformes)	Ixodida	Ixodidae Argasidae		
					Mesostigmata	Dermanyssidae Parasitidae		
	Oribatida	Oribatidae						
	Prostigmata	Tarsonimidae Pyemotidae Trombiculidae Tetranychidae Demodicidae Cheyletidae						
		Astigmata			Glycyphagidae	<i>Lepidoglyphus</i> <i>Glycyphagus</i> <i>Gohieria</i> <i>Blomia</i>	<i>L. destructor</i> <i>G. domesticus</i> <i>G. fusca</i> <i>B. tropicalis</i> <i>B. freemani</i> <i>B. kulagini</i>	
	Acaridae	<i>Acarus</i> <i>Aleuroglyphus</i> <i>Tyrophagus</i>			<i>A. siro</i> <i>A. ovatus</i> <i>T. Putrescentiae</i> <i>T. longior</i>			
	Pyroglyphidae	<i>Dermatophagoides</i>  <i>Hirstia</i> <i>Euroglyphus</i>			<i>D. pteronyssinus</i> <i>D. farinae</i> <i>D. microceras</i> <i>D. siboney</i> <i>H. domicola</i> <i>E. maynei</i>			
	Sarcoptidae							
	Chortoglyphidae	<i>Chortoglyphus</i>			<i>C. arcuatus</i>			

## 1. Subclase Acari

La subclase Acari comprende ácaros y garrapatas que forman uno de los más abundantes y diversos grupos biológicos dentro de los arácnidos. Su nombre deriva de la palabra latina *acarus*, que a su vez deriva del nombre griego *akari*, cuya primera mención conocida se atribuye a Aristóteles (Historia Animalum, Libro 5, Capítulo 32) quien utilizó este nombre posiblemente para referirse al ácaro *Carpoglyphis lactis*. Se caracterizan por poseer 4 pares de patas, como las arañas y escorpiones (los insectos poseen 3 pares de patas; los crustáceos tienen 5 pares de patas) y son relativamente menores que sus cuerpos. Tiene un tamaño inferior a 1 mm.

Los ácaros se ubican dentro de los animales terrestres más antiguos y el primer fósil de ácaro conocido procede del Devónico temprano, de casi 400 millones de años, identificado como *Protoacarus crani*, Raftord<sup>28</sup>. Se han descrito aproximadamente 30.000 especies de ácaros, contenidos en más de 1.700 géneros, aunque se considera que el número de especies aún no descritas podría ser veinte veces mayor. Únicamente se han encontrado y denominado al 5% de las especies presentes. Sin embargo, en conjunto las especies relacionadas con la alergia no superan las 25.

Los ácaros son de distribución mundial y han competido con los insectos por los hábitat acuáticos y terrestres, pudiéndose encontrar en el suelo de bosques y praderas o en desechos orgánicos. Muchas especies desarrollan parte de su ciclo vital en árboles y arbustos, mientras que otros son cavernícolas o se han adaptado a vivir en aguas termales. Según las especies se pueden alimentar de plantas, hongos, algas, materia orgánica, desechos animales, devorando artrópodos o nemátodos, o parasitando el exterior e interior de todo tipo de animales (insectos, reptiles, aves y mamíferos).

Tradicionalmente, los ácaros se han considerado como una subclase dentro de los arácnidos, reconociéndose dos o tres grandes grupos, dependiendo de los autores.

Se dividen en Opilioacariformes, Parasitiformes y Acariformes.

- **Opilioacariformes:** (el eslabón perdido), como su nombre indica parecen pequeños opiliones. Se considera a este pequeño grupo de ácaros (20 especies) como los más primitivos. Se encuentran en hojarasca de bosques tropicales y en

suelo de climas semiáridos. Norteamérica, Sudamérica, Asia Central, África y Mediterráneo.

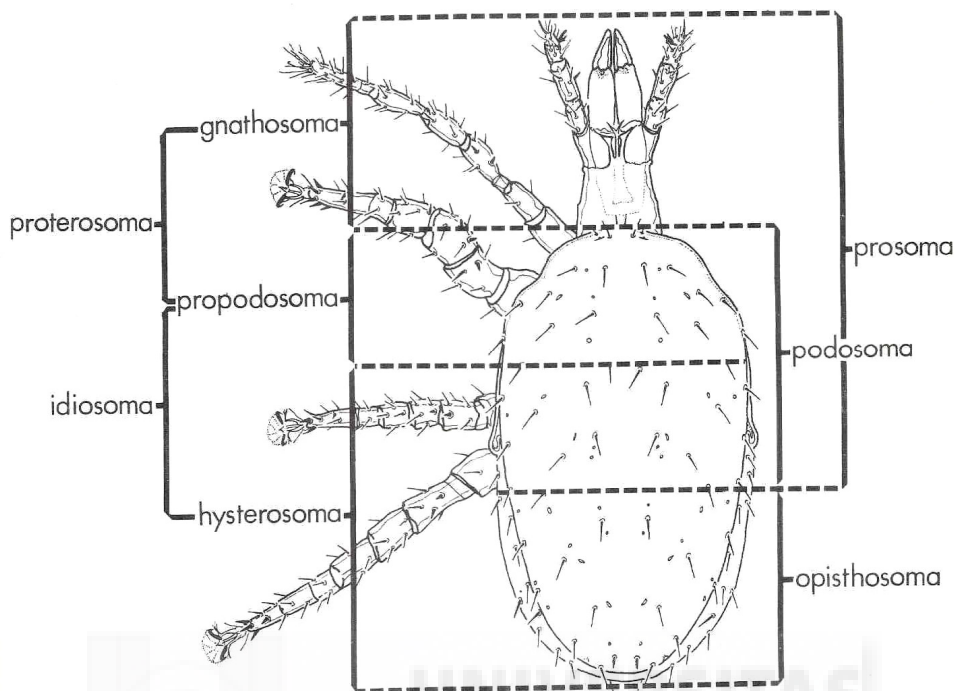
- **Los Parasitiformes:** garrapatas y afines, deben su nombre a que muchas de sus más de 10.000 especies son parásitas de vertebrados. Los Holothyrida son los más escasos (30 especies) Se trata de ácaros grandes depredadores que se encuentran en la hojarasca de bosques tropicales. Comprende 4 órdenes, Notostigmata, Holothyrida, siendo los más importantes el orden Ixódida y Mesostigmata. Los Ixódidos son las garrapatas. Constituyen un grupo (relativamente) pequeño de ácaros (850 especies) pero con una considerable importancia, al alimentarse obligatoriamente de la sangre de mamíferos, reptiles y pájaros. Son ácaros muy grandes (2-30 mm) que se distinguen muy bien del resto de ácaros. Existen dos grandes grupos: las garrapatas “duras” (familia Ixodidae) que tienen un fuerte escudo en el prosoma y se alimentan de todo tipo de animales de sangre caliente; y las garrapatas “blandas” (familia Argasidae) que parasitan aves y pequeños mamíferos. Los Ixódidos se encuentran a lo largo de todo el mundo, pero son más frecuentes en regiones tropicales y subtropicales. Dentro de los Parasitiformes el suborden Mesostigmata es el que presenta mayor diversidad ecológica, habiéndose adaptado a múltiples hábitats. La mayor parte de los Mesostigmata son depredadores que viven de forma libre, pero muchos son parásitos externos o internos de mamíferos, reptiles, pájaros o invertebrados. Son ácaros de movimientos rápidos, de tamaño medio a grande (0,2 a 2 mm), que poseen uno o varios escudos dorsales que pueden estar muy ornamentados y que poseen numerosas sedas. Los Mesostigmata se pueden encontrar a lo largo de todo el mundo en suelo, hojarasca, plantas y parasitando animales. Se pueden encontrar en el polvo doméstico normalmente como depredadores.
- **Acariformes:** son el grupo más diversos de todos los grupos (más de 30.000 especies). Se distinguen tres grupos: **Oribatida, Prostigmata y Astigmata**

- **Oribatida:** Los oribátidos (Oribatida) son un grupo muy amplio de ácaros que casi, en su totalidad forman parte de la fauna del suelo, alimentándose de hongos, algas, esporas, hojas o madera muerta. Son ácaros de tamaño medio (0,2-1,3 mm), que se mueven lentamente y, en la mayoría de los casos, están fuertemente esclerotizados lo que les da la forma de unos pequeños escarabajos. No aparecen en el polvo de las casas más que de forma ocasional.
  
- **Prostigmata:** Los Prostigmata es un grupo muy grande y complejo. Existen especies terrestres, marinas y dulceacuícolas. Son depredadores, fitófagos, saprófagos y parásitos. Su tamaño puede variar desde 0,1 mm a 10 mm. Dos familias son habitantes relativamente frecuentes, aunque no abundantes, de las casas.
  
- **Astigmata:** Los Astigmata son ácaros de tamaño pequeño a medio (0,2 a 1,8 mm), de hábitat exclusivamente terrestre. Muchas especies son saprófagas, fungívoras o granívoras. Existen especies exclusivamente parásitas, y muy pocas depredadoras. La mayor parte son de movimientos lentos, poco o nada esclerotizados. Se caracterizan por no tener estigmas, respirando a través del tegumento. Son los principales habitantes del polvo de las casas y de los productos almacenados, así como los responsables de inducir sensibilización alérgica.

## **B. Morfología básica de los ácaros**

No existen unas características únicas ni comunes de los ácaros como grupo, ya que estas aparecen también en otros grupos de arácnidos. Sin embargo, sí podemos dar una serie de caracteres que, todos juntos, pueden dar una mejor idea de cómo es un ácaro. A continuación mencionamos las más importantes.

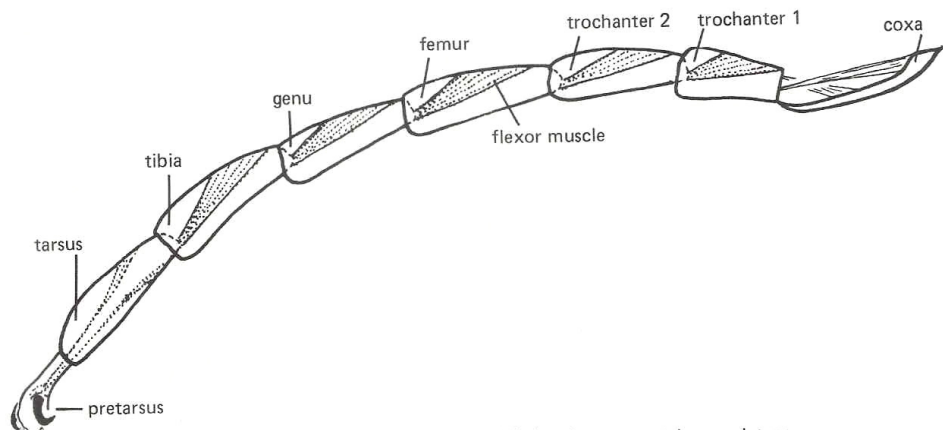
- Animales de pequeño tamaño, aunque con una variedad muy amplia ya que el rango que se puede encontrar varía desde menos de 0,1 mm (algunos ácaros parásitos de abejas o de plantas) hasta los 3 cm que pueden alcanzar las garrapatas.
- El cuerpo está dividido en dos regiones: el prosoma y el opistosoma aunque no existe una separación clara, es decir no hay una “cabeza” definida. No tienen antenas (Figura 1)
- En la parte anterior del cuerpo (el prosoma) se encuentra una prolongación denominada gnatosoma. Aquí se encuentran:
  - la boca, que se encuentra entre las dos siguientes estructuras
  - los quelíceros: son unos apéndices que normalmente terminan en una pinza con la que los ácaros trituran el alimento. En algunos se convierten en estiletes (para perforar la superficie de plantas o animales).
  - los palpos o pedipalpos: tienen una función primordialmente sensorial (similares a pequeñas antenas), están constituidos como las patas por una serie de artejos en los que se disponen numerosas sedas o “pelos”.



**Figura 1.** División general de las partes del cuerpo de los ácaros<sup>29</sup>. Dorso de *Macrocheles merdarius* Berlese.

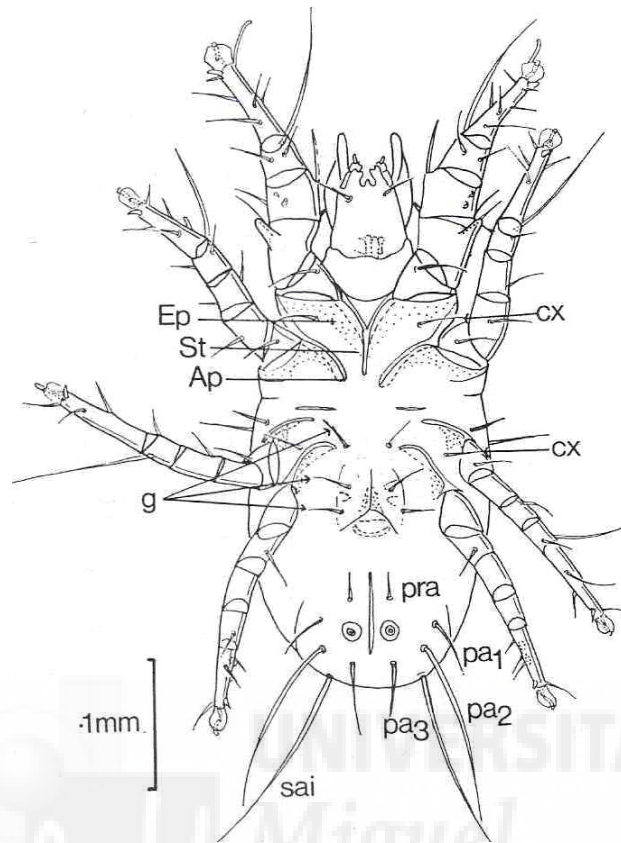
- El resto del cuerpo de un ácaro, excluido el gnatosoma, se denomina idiosoma. Puede tener formas muy diversas, aunque generalmente es ovalado. En algunos ácaros del polvo existe una pequeña constricción media, denominado surco sejugal, que divide el idiosoma en dos partes: proterosoma e histerosoma. Más o menos esta división separa los dos primeros pares de patas de los dos últimos. Así mismo es normal que haya partes endurecidas en forma de placas o escudos que pueden estar muy ornamentados (Figura 1).
- Cuatro pares de patas articuladas en siete segmentos “artejos” (Figura 2). En la parte final puede haber uñas o pequeñas almohadillas (pulvilo).





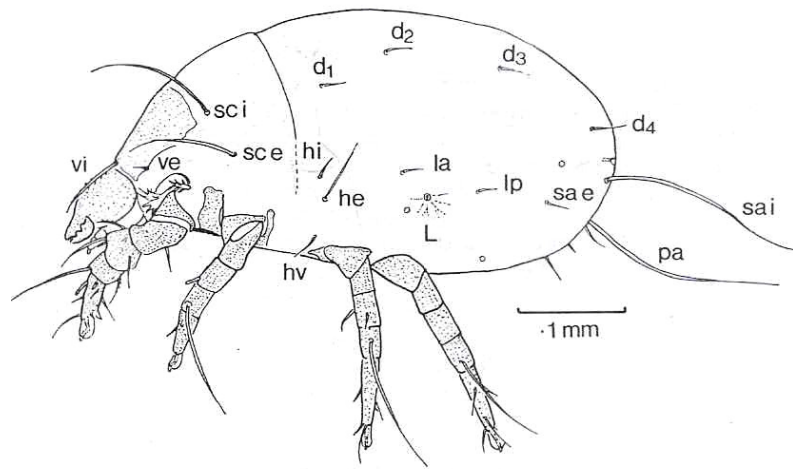
**Figura 2.** Aspecto típico de una pata de un ácaro.

- En la parte ventral se encuentran las aberturas genital (aproximadamente en el centro del idiosoma) y anal. Pueden presentar valvas cubriendo estos orificios. Así mismo puede haber escudos ventrales, ornamentados o no. En los machos de algunos ácaros del polvo existen unas ventosas al lado de la abertura anal, que se utilizan durante la cópula. (Figura 3).
- En las hembras de los ácaros del polvo existe una abertura en la que los machos depositan el esperma, la bursa-copulatrix (de gran interés taxonómico en algunos grupos). Esta abertura, quitinizada o no, lleva el esperma a un receptáculo seminal (cuya base también puede estar quitinizada), que comunica con el ovario.



**Figura 3.** *A. siro* macho en vista ventral; Sedas (pelos) del idiosoma; pa1 hasta pa3: postanales; para: preanal; sai: sacral interna; cx: coxal; g: genital. Ap: apodemas; Ep: epímero; St: sternum.

- El idiosoma, los palpos y las patas pueden estar cubiertos de pelos o “sedas”, de función protectora o sensorial. Pueden presentar aspecto de espinas, abanicos, hojas, lanzas, etc. Son importantes para la sistemática de los ácaros domésticos, especialmente las sedas del propodosoma  $v_i$  (vertical interna),  $v_e$  (vertical externa),  $sc_i$  (escapular interna) y  $sc_e$  (escapular externa).



**Figura 4.** Vista lateral de *A. siro* hembra. Sedas del ideosoma: ve: vertical externa; vi: vertical interna; sce: escapular externa; sci: escapuñar interna; he: humeral externa; hi: humeral interna; d1 a d4: dorsales; la: lateral anterior; lp: lateral posterior; sae: sacral externa; sai: sacral interna; pa: postanal; L: glándula latero abdominal.

UNIVERSIDAD  
 Miguel  
 Hernández

### C. Principales grupos de ácaros que se encuentran en las casas

Los principales grupos de ácaros del polvo de casa pertenecen al suborden Astigmata, y dentro de este a las familias Pyroglyphidae, Acaridae y Glycyphagidae (junto con Echimyopodidae y Chortoglyphidae). Del suborden Prostigmata únicamente son comunes dos familias: Cheyletidae y Tarsonemidae

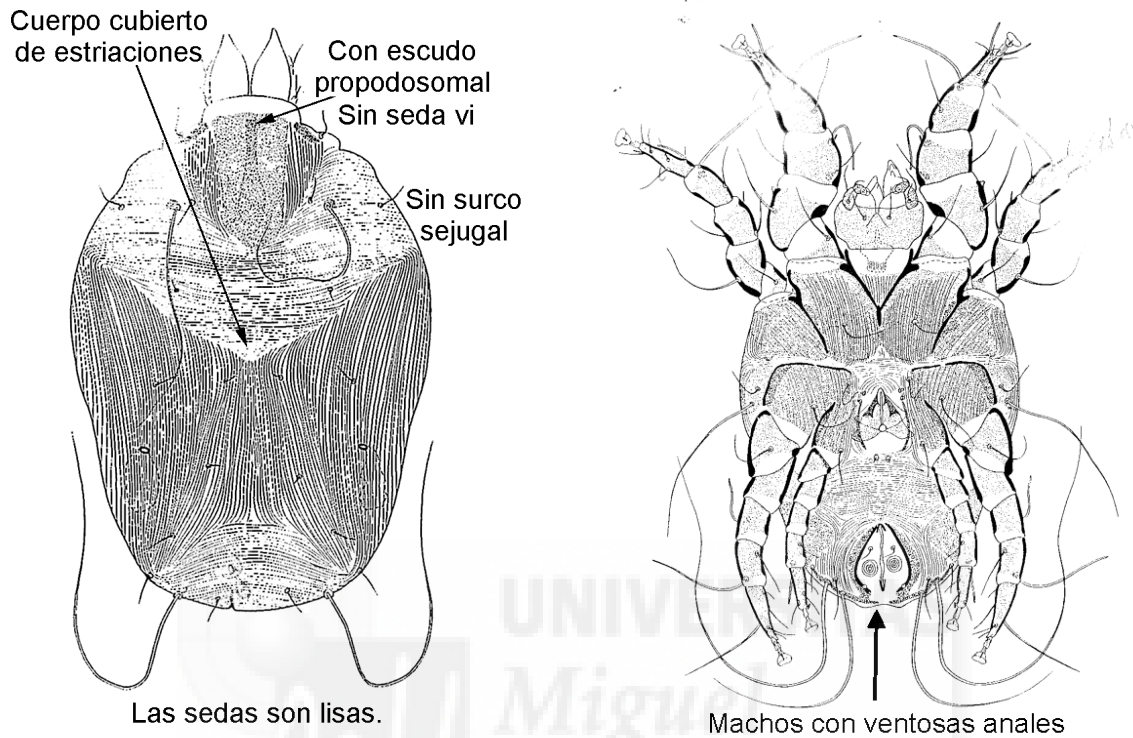
- **Astigmata: Pyroglyphidae**

Tradicionalmente, se han denominado “ácaros del polvo doméstico” (“house dust mites”) a aquellas especies de los Pyroglyphidae que viven permanentemente en el polvo de casa. Se han descrito 49 especies de Pyroglyphidae; la mayor parte viven en los nidos o se encuentran en las plumas de aves. Más de una decena se han encontrado en el interior de las casas. Los más importantes (y su distribución) se indican en la tabla II.

**Tabla II.** Distribución de los ácaros del polvo doméstico más frecuentes

<b>Especie</b>	<b>Distribución</b>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Mundial
<i>D. farinae</i>	Mundial
<i>Euroglyphus maynei</i>	Mundial
<i>Hirstia domicola</i>	Mundial
<i>Malayoglyphus intermedius</i>	Mundial
<i>D. siboney</i>	Cuba y Puerto Rico
<i>D. microceras</i>	Europa

A continuación en la figura 5 mostramos las características principales del género Pyroglyphidae.

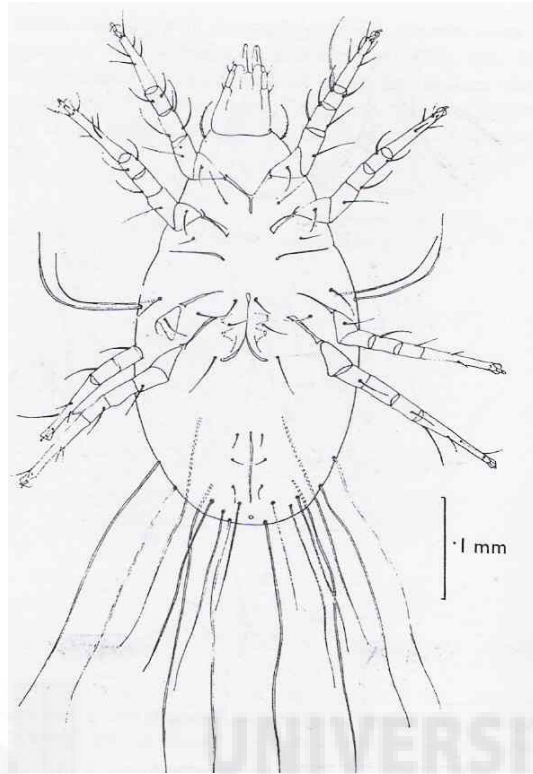


**Figura 5.** Características anatómicas principales de los Pyroglyphidae

- **Astigmata: Acaridae y Glycyphagidae**

Tradicionalmente se les ha denominado “ácaros de almacén” o “ácaros de productos almacenados”. Junto a los Pyroglyphidae también se les denomina “ácaros domésticos”.

Los los géneros más importantes de Acaridae que se pueden encontrar en casas son *A. siro* y *T. putrescentiae*. Estos dos géneros son muy complicados desde el punto de vista taxonómico, con numerosas especies muy parecidas entre sí. Las especies más citadas son *A. siro* y *T. putrescentiae*; sin embargo muchas de estas citas puede que no sean reales, ya que para distinguir estas especies de otras se necesitan bastantes conocimientos de Acarología. En la figura 6 se muestran las características anatómicas principales de los Acaridae.



**Figura 6:** Características anatómicas principales de una hembra de *T. putrescentiae* (Acaridae).

Dentro de los Glycyphagidae, existen bastantes géneros que se han localizado en el ambiente doméstico. Posiblemente sean los ácaros domésticos menos estudiados y conocidos, a pesar de que pueden ser unas fuentes muy importantes de alérgenos. Los géneros y especies más comunes en Europa son los siguientes:

*Austroglycyphagus geniculatus*

*Blomia tropicalis*, *B. kulagini*, *B. tjobodas*\*

*Chortoglyphus arcuatus*\*

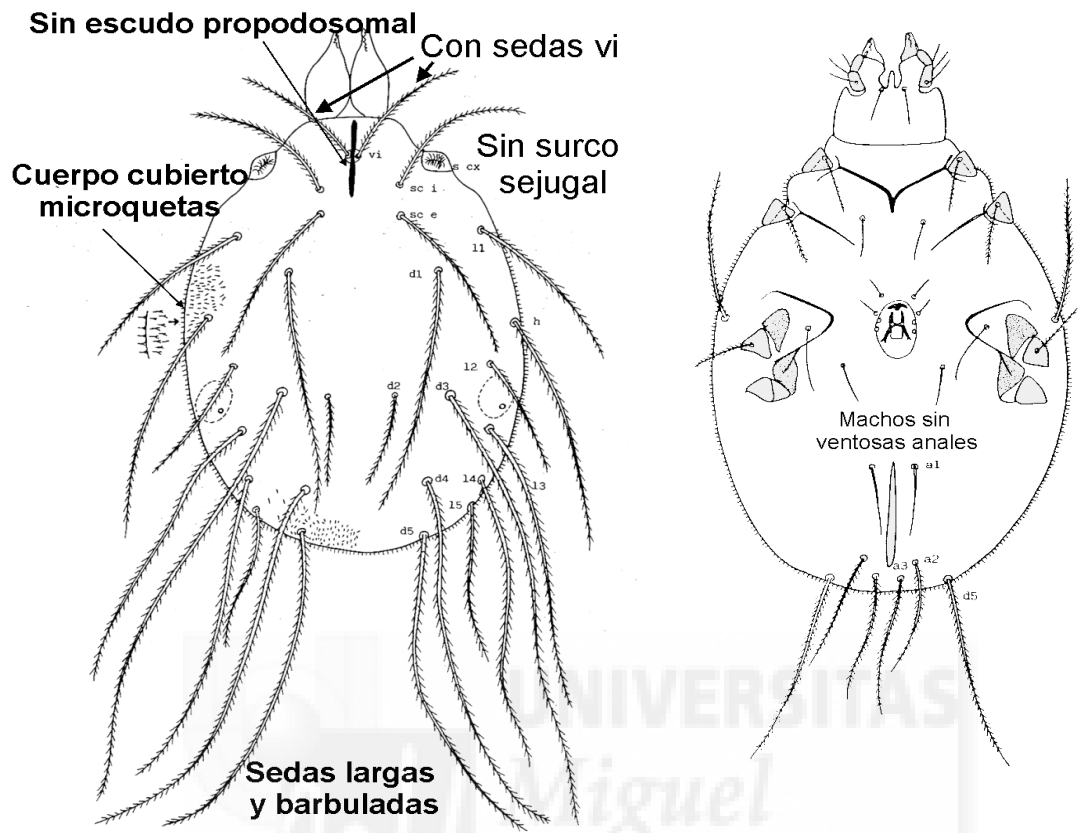
*Glycyphagus domesticus*, *G. privatus*

*Gohieria fusca*

*Lepidoglyphus destructor*

*Blomia* pertenece a la familia Echymiopodidae\*

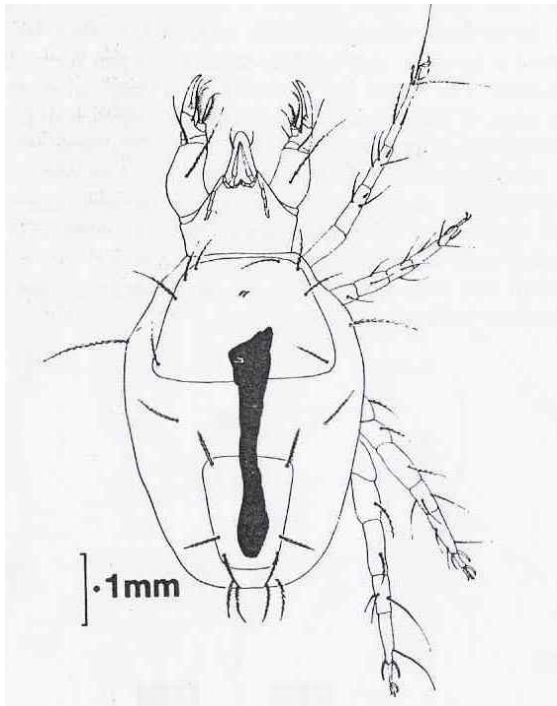
*C. arcuatus* pertenece a la familia Chortoglyphidae.



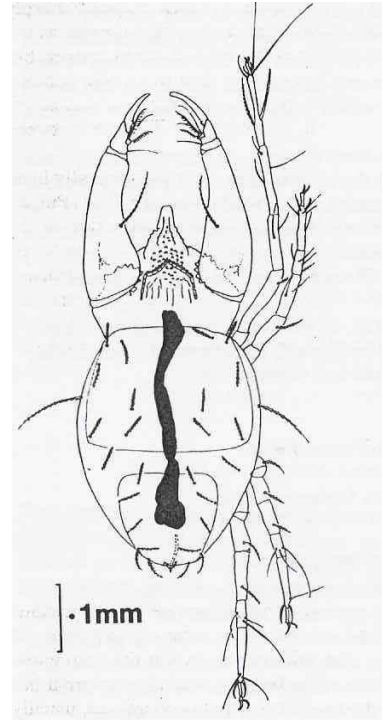
**Figura 7.** Características anatómicas principales de los Glycyphagidae.

- **Prostigmata: Cheyletidae y Tarsonemidae**

Aunque estas dos familias pertenecen al mismo suborden, se puede decir que no se parecen en nada. Los Chyletidae son ácaros grandes (alrededor de 500  $\mu\text{m}$ ), con un gnatosoma prominente, en el que destacan los palpos extraordinariamente engrosados. Son ácaros depredadores de otros ácaros pero nunca son abundantes, aunque en condiciones pueden superar los 100 ejemplares por gramo de polvo. La especie más común, a escala mundial, es *C. eruditus* y se muestra en la Figura 8.



*Cheyletus eruditus* hembra

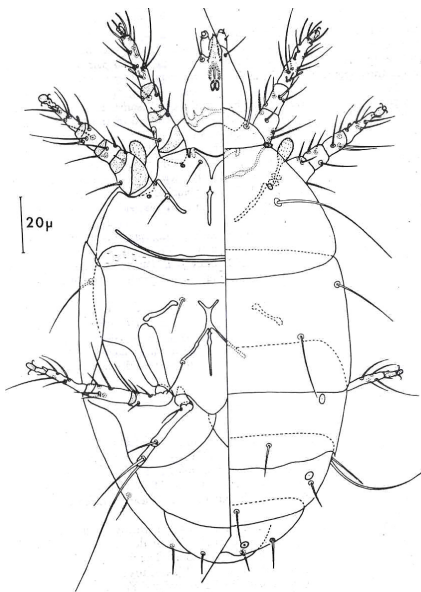


*Cheyletus eruditus* macho.

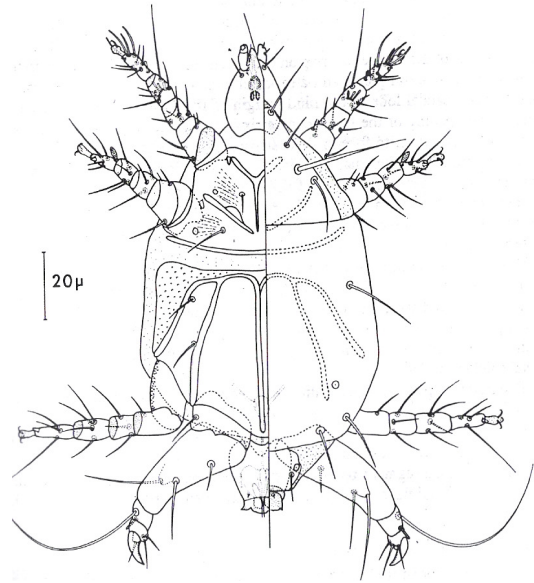
**Figura 8.** Características anatómicas principales de los *Cheyletus eruditus*.

Los *Tarsonemidae* son pequeños (entre 100 y 300  $\mu\text{m}$ ) de forma ovalada y cubiertos de una cutícula lisa y brillante. Se alimentan de hongos y no son frecuentes en las casas, sin embargo pueden ser extraordinariamente abundantes en ocasiones puntuales. Los dibujos de un macho y una hembra se muestran en la Figura 9.



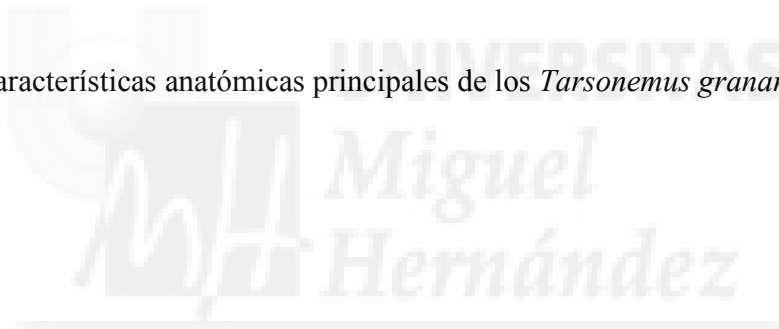


*Tarsonemus granarius* hembra



*Tarsonemus granarius* macho

**Figura 9.** Características anatómicas principales de los *Tarsonemus granarius*.



## **D. Biología de los ácaros domésticos**

### **1. Respiración**

Al pertenecer la mayor parte de los ácaros domésticos al orden Astigmata, estos no tienen aberturas respiratorias externas o estigmas (Astigmata quiere decir “sin estigmas”). Su pequeño tamaño hace que la proporción entre la superficie del cuerpo y su interior sea suficiente para permitir un intercambio gaseoso eficiente a través de la piel. En otros órdenes, la respiración puede ser también por medio de 1-4 aberturas respiratorias denominadas estigmas, que están localizadas en la mitad anterior del cuerpo, o por medio de tráquea.

### **2. Sistema digestivo y alimentación**

Los ácaros tienen un tracto digestivo desarrollado, que incluye la boca (Quelíceros y pedipalpos) glándulas salivares, y el intestino, que consiste en esófago, intestino delgado, con un largo ciego, intestino grueso y un ano<sup>30</sup>. Su sistema digestivo produce partículas fecales esféricas (diámetro aproximado de 20  $\mu\text{m}$ ) envueltas en una membrana peritrófica. Los ácaros más comúnmente encontrados en el interior de las casas en todo el mundo, entre los que se encuentran *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *E. maynei* y *B. tropicalis*, se alimentan principalmente de escamas humanas. La cantidad de escamas humanas liberadas diariamente por un adulto es de 0,5 a 1 g por lo que es un alimento muy abundante. Además de las escamas la dieta de un ácaro puede consistir en: hongos (especialmente los que crezcan en la epidermis), fragmentos del cuerpo de insectos (escarabajos, cucarachas, polillas), etc.

### **3. Ciclo de vida**

El ciclo de vida de los ácaros del polvo y de algunos de los ácaros de almacén consiste en 5 estados (huevo, larva, protoninfa, tritoinfa y adultos). En cada estado se distingue un periodo activo de locomoción y alimentación seguido de otro periodo, más corto, quiescente antes de que el nuevo estadio emerja del antiguo rompiendo el exoesqueleto. El periodo quiescente de la protoninfa, en los ácaros del polvo, puede ser de larga duración ya que es resistente a la desecación y es el que permite a los ácaros sobrevivir a largos periodos secos (varios meses). Este estadio permanece pegado al sustrato y no puede ser eliminado

mediante aspirado de las alfombras o de la superficie del suelo o de los muebles. En algunos ácaros de almacén (*L. destructor*, *A. siro*) tienen un estadio adicional (deutoninfa o hipopus) que tiene una función de dispersión o de resistencia durante condiciones desfavorables climáticas o nutricionales.

El ciclo de vida de los ácaros es directamente dependiente de la temperatura. Los microhábitats donde los ácaros se encuentran en las casas no son de temperatura ni de humedad relativa uniforme; la temperatura puede fluctuar durante periodos cortos dentro de un microhábitat. De esta forma, el desarrollo en lugares de baja temperatura (suelo) es más bajo comparado con su desarrollo en lugares más cálidos (sábanas o sofás). Así para *D. pteronyssinus* el ciclo de huevo a adulto dura unos 122 días a 16°C (y 75%HR) mientras que a 35° C sólo tarda 15 días.

#### **4. Características morfológicas de los diferentes estadios de los ácaros del polvo.**

Larva: Hexápoda, sin morfología genital o estructuras reproductoras internas. No tienen sedas ventrales, sedas genitales, papilas genitales ni algunas sedas dorsales y laterales.

Protoninfa: Octópoda, tienen todas las sedas anales, genitales, dorsales y laterales. 1 par de papilas genitales y sin abertura genital entre las patas IV.

Tritoninfa: Octópoda, 2 pares de papilas genitales, sin abertura genital.

Adulto: Octópodo, abertura genital entre las patas III (hembras) y patas III y IV (machos); 2 pares de papilas genitales entre las patas III y IV; en las hembras se observa el complejo formado por bursa copulatrix, conductos y receptáculo seminal. El tamaño varía entre las distintas especies, siendo mayor la hembra que el macho. Los estadios inmaduros tienen un tamaño inferior al de los adultos. En la siguiente tabla aparecen los tamaños (en micras) de las principales especies.

**Tabla III.** Tamaños de ácaros en micras, de las principales especies

<b>Especies</b>	<b>Hembra</b>	<b>Macho</b>
<i>Acarus siro</i>	350-650	320-460
<i>Blomia tropicalis</i>	320-457	246-406.
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	350-400	250-300
<i>Dermatophagoides farinae</i>	360-400	260-360
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	350	285
<i>Euroglyphus maynei</i>	280	200
<i>Glycyphagus domesticus</i>	400-750	320-400
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	420-560	350-500
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	320-410	280-350

El peso varía entre las especies. Una hembra de *D. farinae* pesa entre 11 y 13  $\mu\text{g}$ , mientras que una de *E. maynei* pesa unos 2  $\mu\text{g}$ . La longevidad de los adultos depende también de la temperatura; una hembra de *D. pteronyssinus* vive unos 30 días a 23° C y 16 días a 35°C.

## **5. Reproducción**

La cópula tiene lugar inmediatamente después de la última muda de la tritoninfa hembra. Los machos adultos buscan las tritoninfas hembras y esperan que se produzca la muda. Una vez que se ha producido, los machos montan en la parte trasera de la hembra a la que se unen mediante las ventosas anales (en aquellas especies que las tengan). El pene se inserta en la abertura de la *bursa copulatrix* y el esperma es transferido a la hembra, donde es almacenado en el receptáculo seminal de la bursa. El esperma es transferido después de la cópula desde el receptáculo seminal al ovario. Después de un corto periodo, la hembra empieza a poner huevos (varios por día). El número total y por día de huevos depositados depende de la especie y de la temperatura. Para que su ciclo de vida sea exitoso, requieren un rango óptimo de humedad relativa entre el 70% y el 90%. También es necesaria una temperatura aproximada de 25° C para su reproducción. A mayor temperatura, mayor

número de huevos por día, aunque el periodo reproductivo es menor. Así una hembra de *D. pteronyssinus* deposita unos 3,3 huevos durante 12 días a 35° C, mientras que a 23° C pone 2,5 huevos/día durante 26 días. Por tanto, su desarrollo en suelos lisos fríos (mármol o losetas) es menor que en hábitats más templados, como colchones y sofás. Para *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, el desarrollo de huevo a adulto tarda entre 19 y 33 días a temperaturas que pueden oscilar entre 22° y 32° C, con una humedad relativa del 75%<sup>31</sup>. Sin embargo en países tropicales, *B. tropicalis*, y otras especies tropicales, precisan de períodos más reducidos de tiempo para alcanzar el estado adulto<sup>32</sup>.

## **6. Factores que influyen en las poblaciones de ácaros domésticos**

Se pueden distinguir factores bióticos y factores abióticos.

### **a) Factores bióticos**

Los hongos constituyen un componente muy abundante del polvo doméstico, incidiendo directamente sobre las poblaciones de ácaros. Entre sus influencias positivas se puede citar; el favorecer la asimilación de la comida por parte de los ácaros, por la digestión previa de los lípidos del sustrato proteico, y ser un componente importante de la dieta de los ácaros aportando sustratos ricos en vitaminas y esteroides. Entre las influencias negativas se incluyen efectos antagónicos como el incremento de mortalidad ninfal y acortamiento de la longevidad de los adultos, sobre todo cuando la humedad sobrepasa el 80% y se produce un crecimiento desproporcionado del manto fúngico.

La depredación y la competición parecen ser de poca importancia en la regulación de las poblaciones naturales de ácaros en el polvo de casa. Entre los depredadores que se encuentran en el polvo de casa destacan los ácaros Prostigmata del género *Cheyletus*, pero siempre en pequeño número y siendo incapaces de controlar a los ácaros domésticos. La competición entre especies de ácaros domésticos en las casas no debe ser un factor limitante ya que tanto el espacio como la comida son muy abundantes. Sin embargo, los ácaros presentes en alimentos almacenados si pueden ser controlados con *C. eruditus*<sup>33</sup>. El posible uso de *C. eruditus* para controlar ácaros en el polvo de casa se complica enormemente al haber sido demostrado que especies del género *Cheyletus*, como el *C. malaccensis* inducen, por sus picaduras, urticaria papular<sup>34</sup>.

## **b) Factores abióticos**

El factor más importante que determina la prevalencia de los ácaros en las casas es la humedad relativa ambiental. En zonas húmedas, la mayoría de las casas tienen poblaciones estables de ácaros. En climas secos, pocas casas contienen ácaros y la densidad de ácaros es inferior, comparada con la de zonas húmedas. La densidad en las casas muestra un ciclo estacional paralelo a las variaciones de humedad, coincidiendo los periodos de mayor humedad relativa con los de mayor densidad de ácaros<sup>35, 36</sup>. Durante los periodos secos los ácaros mueren por desecación.

Dado que los ácaros del polvo viven en hábitats donde no hay agua líquida, han desarrollado diversos métodos para extraer agua del ambiente, ya que tienen que compensar sus pérdidas por evaporación y en la eliminación de excretas. Con la comida ingieren agua y obtienen agua proveniente de la oxidación de los carbohidratos, grasas y proteínas y pueden absorber agua de ambientes no saturados. Los ácaros actúan como cuerpos higroscópicos y, pasivamente, ganan agua por difusión desde su ambiente. La cantidad de vapor que pueden ganar de forma pasiva por unidad de tiempo es directamente proporcional a la humedad relativa a la que están sometidos. Sin embargo esta ganancia, por si sola, no puede compensar la pérdida total. La contribución de una forma activa (que requiere energía) es necesaria para compensar la pérdida de agua.

La humedad relativa más baja a cual la toma pasiva y activa de humedad compensan la pérdida de agua bajo condiciones de ayuno es conocido como Humedad Crítica de Equilibrio (HCE). Esta HCE es dependiente de la temperatura: a mayor temperatura mayor HCE. A humedad relativa inferior a la HCE, la pérdida de agua es superior a la ganancia y los ácaros gradualmente se desecan. De forma general, los ácaros mueren con humedad por debajo de 55 al 60%, aunque la HCE varía entre especies (Tabla IV), siendo por ejemplo *D. pteronyssinus* más susceptible a la desecación que *D. farinae*. También hay diferencias entre los estadios, siendo las hembras adultas más resistentes que los machos e inmaduros. Un hecho importante es que la desecación es gradual pudiendo sobrevivir algunas hembras de 6 a 10 días a 40-50% de humedad relativa y 28 - 34° C.

**Tabla IV.** Temperatura y humedad crítica de equilibrio óptimas para el crecimiento de determinados ácaros.

<b>Especie</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>HCE</b>
<i>D. pteronyssinus</i>	25°	73%
<i>D. farinae</i>	15°-35°	55-75%
<i>A. siro</i>	25°	70%
<i>T. putrescentiae</i>	25°	84%

La toma activa de agua se realiza mediante el par de glándulas supracoxales situadas sobre las patas I. Estas glándulas segregan un líquido rico en sodio y clorato de potasio altamente higroscópico, que absorbe vapor de agua a humedades relativas superiores al 70% mientras circula a lo largo del canal podocéfálico desde la región de la coxa I al área prebucal. La solución enriquecida con el vapor de agua es bombeada dentro del intestino por la bomba faringea donde el agua y la sal pasan a la hemolinfa. La sal es absorbida y reciclada por la glándula supracoxal que está bañada por la hemolinfa. En resumen, los valores óptimos de humedad relativa del aire están entre 70 y 90%. Valores superiores no son adecuados por el crecimiento de otros microorganismos (hongos y bacterias), que compiten o afectan a los ácaros.

La temperatura tiene una importancia decisiva, puesto que la humedad de equilibrio es dependiente de esta. De todas formas la mayor parte de los ácaros domésticos pueden soportar temperaturas muy bajas y los *Dermatophagoides* pueden sobrevivir después de cortos periodos de congelación, por lo que tienen un comportamiento poiquilotérmico. En general, a temperaturas bajas la tasa reproductiva y de desarrollo se ralentiza. Para la gran mayoría las temperaturas óptimas son entre 20°-30°. Por encima de 35° C las poblaciones no se desarrollan y a temperaturas superiores a 45° C sólo sobreviven un corto periodo de tiempo. Sin embargo para eliminar todos los ácaros (incluidos los huevos y estadios quiescentes) es necesario una temperatura superior a 60° durante algunas horas.

## **E. Distribución y abundancia de los ácaros en las casas**

Todos los grupos de ácaros que viven en el interior de las casas pueden encontrarse también en otros hábitats. Los ácaros del polvo pueden estar presentes en nidos de pájaros, en el suelo (tierra) y en hojarasca (normalmente asociados a insectos y pequeños mamíferos). Los Glycyphagidae también se pueden encontrar en nidos de mamíferos. No se puede decir que haya especies exclusivas del hábitat humano. Los nidos y plumas de pájaros, o el pelaje de mamíferos mantienen una temperatura y humedad relativamente elevadas, debido a la generación de calor por el huésped. Además, existe abundante comida formada por restos alimenticios de los animales, heces, escamas de la piel, aceites y hongos y bacterias que los colonizan.

Los lugares en los que se encuentran los ácaros domésticos son los tejidos (ropa, fundas, peluches) u objetos que tengan contacto frecuente con los humanos. Los ácaros domésticos se encuentran principalmente en colchones, alfombras y algunos muebles, como sofás y sillas tapizadas. Normalmente, se considera que las camas contienen más ácaros y alérgenos que el resto, aunque hay algunos estudios que lo ponen en entredicho, sugiriendo que los colchones son igualmente reservorios muy importantes<sup>37</sup>.

Las especies de ácaros más relevantes desde el punto de vista alergológico son las que habitan en los domicilios y, por tanto, se encuentran en mayor contacto con los seres humanos. Estas especies pertenecen a la familia Pyroglyphidae, que incluye los géneros *Dermatophagoides* y *Euroglyphus*. La mayoría de los ácaros de este orden tienen colores que van desde el blanco perla hasta amarillo-marrón y presentan cutículas lisas, estriadas o cubiertas con microtriquias. Se caracterizan por la cutícula poco queratinizada y respiración cutánea. En su desarrollo pasan por seis estadios: huevo, prelarva, larva, protoninfa, tritoinfa y adulto. Cada estadio consiste en un período activo de alimentación, seguido de un corto período inactivo, sin alimentarse, antes del siguiente estadio que emerge del exoesqueleto.

De la familia Pyroglyphidae del género *Dermatophagoides* se han descrito 11 especies de las cuales, las siguientes son las de mayor interés: *D. pteronyssinus* (Trouessart, 1897); *D. farinae* (Hughes, 1961); *D. microceras* Griffiths y Cunnington, 1971; *D. evansi* Fain, Hughes y Johnston, 1967; *D. siboney* Dusbabek, Cuervo y Cruz, 1982 y *D.*



*neotropicalis* Fain y van Bronswijk, 1973. Otra especie de esta familia asociada al polvo doméstico y a las patologías alérgicas es *E. maynei*, Cooreman, 1950.

Algunos ácaros viven en alimentos almacenados, como harinas, arroz y demás cereales, donde se desarrollan rápidamente, adquiriendo la condición de plagas. También han sido implicados recientemente en diversos casos de anafilaxia idiopática tras ingerir pacientes alérgicos a ácaros alimentos infectados con ácaros<sup>38,39</sup>. Aunque en menor cantidad, los ácaros presentes en las harinas también pueden encontrarse en muestras de polvo de casa. Entre ellos destacan los miembros de la familia Glycyphagidae, Chortoglyphidae y Acaridae<sup>40</sup>.



## **F. Aislamiento y preparación de muestras de ácaros**

### **1. Recolección de polvo doméstico**

La recogida de polvo de casa puede realizarse mediante cepillado, barrido o aspirado. Los lugares más importantes para la recogida de muestras de polvo son aquellos donde la densidad de ácaros (y por consiguiente, de alérgenos) es mayor, por ejemplo, la cama (fundas del colchón, sábanas, almohadas, fundas de almohadas y mantas), alfombras del dormitorio y de la sala de estar, suelo de madera, baldosas y sofás. También se pueden recoger muestras de polvo de los armarios, alfombras del sótano, suelo de la cocina y despensas, vestidos<sup>41</sup> y cuero cabelludo<sup>42</sup> y conductos de aire, mediante aspiradoras modificadas. En caso de recoger muestras de polvo de un suelo con baldosas, está indicado realizar un cepillado o barrido de toda la superficie del mismo. Sin embargo, el barrido es menos efectivo que el aspirado en cuanto a número de ácaros recogidos y no es recomendable en alfombras o moquetas.

Diversos métodos se pueden usar para estimar la cantidad de ácaros o la concentración de alérgenos en el interior de una casa. Las muestras de polvo pueden recogerse mediante aspiración usando una aspiradora (con una bolsa nueva para cada sitio que se quiera muestrear). Se recomienda aspirar la superficie completa de las alfombras del dormitorio, colchones y moquetas, e introducir cada muestra en bolsas de plástico, o tubos de plástico o cristal, individuales. Los protocolos estandarizados recomiendan aspirar 1 m<sup>2</sup> de la alfombra, moqueta o colchón durante 1 o 2 minutos. Algunos laboratorios facilitan boquillas de aspiradoras modificadas en la que se inserta un papel de filtro u otro material, facilitando así la recogida y transporte de las muestras.

Otros métodos para la recogida de ácaros incluye el método de extracción por calor y prueba de la movilidad (o de transferencia pasiva). En ambas técnicas, una cinta adhesiva es colocada sobre la superficie del colchón a alfombra y se fuerza que los ácaros se muevan hacia ella calentando la parte inferior (37° C) o por necesidad natural de requerimiento de espacio por los ácaros. Después de varias horas, el adhesivo se retira y se realiza el conteo de los ácaros presentes por área de la muestra. Estos métodos, que normalmente sólo se utilizan en investigación, proporcionan un mayor número de ácaros intactos que el aspirado

o el barrido, aunque la cantidad total sea menor. Este método se suele usar para evaluar la eficacia de los acaricidas.

Una vez recogida la muestra, por aspirado o cepillado, se introducirá en una bolsa de plástico, o recipiente de cristal. Las muestras no deben conservarse a temperatura ambiente porque, mientras los ácaros permanezcan vivos, pueden continuar su reproducción y modificar el número final de los mismos. Por tanto, en caso de no cuantificar los ácaros de forma inmediata, las muestras recogidas para una lectura posterior deben conservarse en un lugar frío y seco (a ser posible en nevera o congelador) y, preferiblemente, congelar las muestras durante un día a  $-4^{\circ}$  C. La cantidad de polvo recogida debe ser suficiente para la realización su cuantificación, con un mínimo por muestra de 100 a 200 mg de polvo fino.

## **2. Preparación de las muestras de polvo y separación de los ácaros**

La estimación de la presencia de ácaros o de sus alérgenos en una muestra de polvo puede realizarse usando diferentes métodos, entre los que se incluyen:

- Conteo e identificación de los ácaros presentes en la muestra.
- Ensayos inmunoquímicos para detectar los alérgenos de ácaros presentes.
- Determinación mediante test de guanina.

Existen dos grupos de técnicas de separación de los ácaros de la muestra de polvo: suspensión y flotación.

### **a) Método de suspensión**

En el método de suspensión se moja y dispersa la muestra de polvo en un medio adecuado (solución salina saturada o ácido láctico 90% calentado). La suspensión se examina en una placa de Petri o se filtra a través de una serie de tamices. Los más utilizados son:

- **Método de Arlian**<sup>43</sup>. Se suspenden 50 mg de muestra en 30 ml de una solución saturada de NaCl. Después se añaden 3 o 4 gotas de un detergente concentrado y se agita durante 30 o 40 segundos. A continuación se filtra a

través de un filtro de 40  $\mu\text{m}$ , lavando con agua destilada lo que se ha depositado. Después se añade unas gotas de solución diluida de cristal violeta (5 gotas de solución 1% cristal violeta y 95% etanol en 100 ml de agua destilada) en el filtro. Se vuelve a lavar con agua destilada hasta que el agua filtrada sale clara. El polvo depositado en el filtro se enjuaga con un frasco lavador colocándolo boca abajo en una placa de conteo. Los ácaros pueden contarse ahora utilizando un microscopio con un aumento de 250x siguiendo las cuadrículas de la placa.

- **Método de suspensión con rosa lignina**<sup>44</sup>. Se mezclan 100 mg del polvo con 10 ml de ácido láctico 94% en una Placa de Petri de 10 cm. Se añade un poco de tinte rosa lignina y después de agitar la suspensión se incuba durante 2 días a 55°C. Después los ácaros se cuentan con una lupa y/o se identifican al microscopio.
- **Método de suspensión modificado**. Se añaden 10 a 20 mg. de polvo a una pequeña placa de Petri que contiene aproximadamente 5ml de solución saturada salina y 20% ácido láctico (opcional). Después de 3 minutos de incubación y de agitar ligeramente todos los ácaros presentes en la muestra se recogen y se montan para su identificación.

#### **b) Método de flotación**

Se basan en aprovechar las diferentes densidades de los ácaros en el medio acuoso en el que se sumerge la muestra. Son muy utilizados por su simplicidad. Los más utilizados son:

- **Método de flotación de Hart y Fain**<sup>45</sup>. Es uno de los métodos más utilizados. Se sumergen 100 mg de polvo en etanol al 70% durante 4 horas (mínimo) recogiendo el sobrenadante y resuspendiéndolo en agua destilada. Después se vierte en placa de Petri para su inspección, recolección y montaje de los ácaros.

- **Método de flotación de Fain.** Se colocan 100 mg de la muestra en 50 ml de solución salina saturada junto a 5 gotas de jabón líquido en un tubo graduado. Se le da la vuelta al cilindro 3 veces y se deja reposar durante 5 minutos, formándose un sobrenadante. Se vierten alícuotas de 5ml de este sobrenadante en placas de Petri pequeñas (5 x 1,5 cm.). Cada ácaro presente en cada alícuota es recogido y montado para su identificación al microscopio.

### **3. Montaje de preparaciones para microscopía óptica**

Los ácaros deben recogerse uno a uno y montarse en preparaciones permanentes para su identificación. Colloff<sup>46</sup> ha desarrollado un método de transferencia masiva que permite montar 200 o 300 ácaros en una sencilla operación. Los ácaros son congelados en agua en un vidrio de reloj y transferido en hielo a un portaobjetos con silicona. El agua se evapora mediante calor y los especímenes se montan directamente.

Lo ideal es que todos los ácaros extraídos de las muestras sean lavados, aclarados y montados en portaobjetos de microscopio. Una vez que los ácaros han sido extraídos, se pueden preparar preparaciones temporales o permanentes. Las preparaciones temporales pueden prepararse montando los ácaros directamente en 2 gotas de ácido láctico al 50 ó 100% y cubriéndolos con cubreobjetos de microscopio. Las concentraciones más bajas deben usarse con las especies menos esclerotizadas. La preparación puede ser calentada en una placa calefactor a 60° C. Una vez que los ácaros se han aclarado, se deben guardar en frío. Los ácaros pueden moverse usando una lanceta, o usando un portaobjetos excavado y moviendo ligeramente el cubre. Otros medios para montar preparaciones temporales es usar lactofenol en vez del ácido láctico, o este último teñido con rosa lignina.

Las preparaciones permanentes se suelen realizar habitualmente en Medio de Hoyer. Este medio está compuesto de: 50 ml de agua destilada, 30 g de Goma Arábiga, 200 g de Hidrato de Cloral y 20 ml de Glicerol. Estos ingredientes se mezclan en la misma secuencia a temperatura ambiente. Los ácaros se montan preferiblemente vivos, aunque se pueden montar ya muertos desde alcohol o solución salina. Los ejemplares se colocan en 2 gotas del medio sobre el portaobjetos. Después, el cubreobjetos se deposita encima de las gotas. El portaobjetos puede ser calentado ligeramente para favorecer el aclarado de los ejemplares,

hacer que los ácaros se extiendan y fijar la preparación. Los ácaros no montados deberían ser guardados en alcohol al 70%. Los ácaros pueden ser almacenados en etanol 70-80% o de forma indefinida en líquido de Oudemans (87 partes de etanol, 5 partes de glicerina y 8 partes de ácido acético glacial).

#### **4. Cuantificación de alérgenos de ácaros en muestras de polvo**

Las muestras de polvo recolectadas, también pueden ser usadas para cuantificar los alérgenos presentes en ellas. El método de ELISA es el método más popular para cuantificar niveles de alérgenos de los ácaros en muestras de polvo. Normalmente se usa una combinación de anticuerpos monoclonales contra epítomos de Der p 1, Der f 1, Der p 2 para determinar la cantidad de estos alérgenos en el polvo de casa. Basadas en estas mediciones, se ha propuesto el factor de riesgo para desarrollar asma en pacientes sensibilizados con niveles superiores a 10 µg de Der p 1/g de polvo. La cantidad de alérgeno total contenido en la muestra de polvo de una casa también se puede cuantificar mediante inhibición del RAST.

Las partículas fecales de los ácaros transportan la mayoría de sus alérgenos. La detección de guanina es un método alternativo para estimar la cantidad de alérgeno de ácaros en el polvo de casa, ya que esta purina es el principal producto nitrogenado en las heces de estos artrópodos<sup>47</sup>.

## G. Alergenos de los ácaros

Los alergenos se definen como antígenos capaces de inducir la síntesis de IgE específica por parte del sistema inmunitario. Se conocen como aeroalergenos a aquellos alergenos que pueden estar presentes en el aire, penetran al organismo por vía respiratoria y son capaces de producir alergia respiratoria, cutánea o conjuntival. Se acepta que son, fundamentalmente, proteínas o glicoproteínas con masas moleculares que oscilan entre 30 y 90 kDa.

El número de alergenos purificados se ha incrementado en los últimos años. La Biología Molecular ha permitido la obtención de cantidades importantes de alergenos purificados que han permitido el rastreo de epítomos de unión de IgE e IgG específicas en el suero de pacientes alérgicos. Estos alergenos altamente purificados han sido usados igualmente en la realización de pruebas cutáneas y se ha sugerido su uso en la elaboración de vacunas con alergenos recombinantes<sup>48, 49</sup>. En los últimos años, se han identificado las funciones biológicas de muchos alergenos de los ácaros<sup>50</sup> y se ha sugerido que la actividad proteolítica asociada a muchos de ellos es un factor importante en el proceso de sensibilización y en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la alergia<sup>51</sup>.

- **Alergenos con actividad enzimática: Grupos 1, 3, 4, 6, 8, 9 y 15**

Los alergenos del grupo 1 son glicoproteínas con alta homología entre sí. Su función es similar a la papaína, bromelina y catepsina B y H<sup>52</sup>. El Der p 1 tiene un efecto directo sobre el sistema inmune<sup>53</sup>. También puede alterar el epitelio respiratorio y aumentar la permeabilidad pulmonar<sup>54</sup>. Además, escinde el receptor CD23 de la membrana de los linfocitos T, favoreciendo la síntesis de IgE<sup>55</sup>, y del mismo modo separa CD25 (receptor de IL-2) favoreciendo una respuesta tipo TH2<sup>56</sup>. Otras especies en las que se ha descrito el grupo 1, son Der f 1, Der m 1 y Eur m 1 (Tabla V y VI).

El grupo 3 posee actividad serina proteasa (tripsina). Entre el 60 y 80% de pacientes alérgicos a *Dermatophagoides spp.* Presentan IgE contra estas proteínas<sup>57</sup>. También pertenece el Eur m 3. El grupo 4 tiene una homología a la amilasa<sup>58</sup>. Reconocido entre el 25% al 46% de los alérgicos a ácaros. El grupo 6 tiene actividad serina proteasa (quimotripsina). Une IgE con una frecuencia entre el 40% al 60%. 86% de homología entre Der p 7 y Der f 7. El grupo 8 tiene homología con glutatión-S-transferasa y reconoce al 40% de los pacientes<sup>59</sup>. El grupo 9 tiene actividad colagenolítica<sup>60</sup>. Está presente en el 80% de los

pacientes alérgicos a Der p. El grupo 15 es similar a los quitinasa de los insectos. Es el alérgeno mayor reconocido por perros y gatos<sup>61</sup> y se encuentra en el 70% de los humanos alérgicos a ácaros.

- **Alergenos con actividad de unión a ligandos: grupos 2, 13, 14 y 16**

Los alergenos del grupo 2 se encuentran en el 80% de los pacientes alérgicos<sup>62</sup>. Es el grupo de alergenos (Der p 2, Der f 2, Lep d 2, Tyr p 2 y Gly d 2) que presentan una mayor homología entre sí, siendo además frecuente el polimorfismo proteico. Tiene cierta homología con proteínas epididimales de mamíferos, relacionadas con el transporte de lípidos<sup>63</sup>. El grupo 13 tiene gran homología con proteínas citosólicas que unen ácidos grasos<sup>64</sup>. El grupo 14 es una proteína transportadora de lípidos similar a apolipoporfina, aislada de *Dermatophagoides spp*<sup>65</sup>. El grupo 16 es una proteína ligadora de Ca y regula la actividad del filamento. Se encuentra en el 47% de los individuos alérgicos<sup>66</sup>.

- **Alergenos con actividad sobre el citoesqueleto: grupos 10 y 11**

Estos grupos son similares a la tropomiosina y paramiosina, respectivamente. Están implicados en la contracción muscular en los invertebrados y están presentes en baja concentración en los extractos de ácaros. Der f 10 es un alérgeno con homología entre la tropomiosina de diferentes especies. Der p 10 presenta reactividad cruzada con otros ácaros, mariscos e insectos en los pacientes sensibilizados a marisco<sup>67</sup>. Der f 11 y Blo t 11 es reconocida por el 50% de los pacientes asmáticos acarínicos<sup>68,69</sup>.

- **Alergenos con actividad biológica desconocida: grupos 5, 7 y 12**

Der p5 y Blo t 5 es reconocido por el 50% de los pacientes sensibilizados a ácaros<sup>70</sup>. También son reconocidos en el 50% de los pacientes acarínicos los alergenos Der p 7 y Der f 7<sup>71,72</sup>. El grupo 12 ha sido clonado y secuenciado; Blo t 12 no demuestra homología con otras proteínas<sup>73</sup>.

- **Otros alergenos clonados: grupos 17, 18 y 19**

Recientemente se han registrado en la base de datos de alergenos IUIS otros alergenos de acaros<sup>74</sup>. Der f 17, una proteína ligadora de Ca, con una frecuencia del 35% en el



inmunoblot. Der f 18 una quitinasa, potente alérgeno en perros que reacciona en el 60% de los humanos. Y Blo t 19, homólogo a un péptido antimicrobiano, que se une en el 10% de los sujetos alérgicos a los ácaros.

**Tabla V.** Alergenos de los ácaros del grupo *Dermatophagoides* spp.

<b>Especie</b>	<b>Alergenos</b>	<b>Función</b>	<b>PM (kDa)</b>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Der p 1	cisteina proteasa	25
	Der p 2		14
	Der p 3	Tripsina	28-30
	Der p 4	Amilasa	60
	Der p 5		14
	Der p 6	Quimotripsina	25
	Der p 7		22-28
	Der p 8	Glutation transferasa	
	Der p 9	serina proteasa colagenolítica	
	Der p 10	Tropomiosina	36
	Der p 14	Apolipoforina	
<i>Dermatophagoides farinae</i>	Der f 1		25
	Der f 2		14
	Der f 3	Tripsina	30
	Der f 10	Tropomiosina	
	Der f 11	Paramiosina	98
	Der f 14	Mag3, apolipoforina	
	Der f 15	Quitinasa	98
	Der f 16	Gelsolin	53
	Der f 17		53
Der f 18	Quitinasa	60	
<i>Dermatophagoides microceras</i>	Der m 1		25

**Tabla VI.** Alergenos de los ácaros de otros grupos diferentes a *Dermatophagoides* spp.

<b>Especie</b>	<b>Alergenos</b>	<b>Función</b>	<b>PM (kDa)</b>
<i>Acarus siro</i>	Acar s 13	Prot. transportadora ácidos grasos	14
<i>Blomia tropicalis</i>	Blot t 5		
	Blot t 10	Tropomiosina	33
	Blot t 11	Paramiosina	110
	Blot t 12		14,2
	Blot t 13	Prot. transportadora ácidos grasos	14,8
	Blot t 19	Quitinasa	7,2
<i>Euroglyphus maynei</i>	Eur m 2		
	Eur m 14	Apolipoforina	
<i>Glycyphagus domesticus</i>	Glyd 2		
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	Lep d 2		15
	Lep d 5		
	Lep d 7		
	Lep d 10		
	Lep d 13		
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	Tyr p 2		

## H. Reactividad cruzada entre los alergenios de los ácaros

La existencia en un mismo paciente de sensibilizaciones simultáneas a diferentes ácaros plantea dudas sobre si se debe a fenómenos de reactividad cruzada o se trata de verdaderas sensibilizaciones por ácaros con los que tiene contacto. En la mayoría de los estudios en los que se ha analizado la reactividad cruzada se observa cierto grado de inhibición, que varía entre las distintas especies. Entre otras razones porque en muchos análisis se han utilizado sueros de pacientes de diferentes orígenes y/o extractos de ácaros distintos. Esto es relevante ya que si los pacientes son de distintas áreas geográficas, pueden existir diferentes niveles de exposición o de sensibilización según el predominio de cada especie o alergenios que existan en las distintas áreas. Aunque siempre debemos tener presente que los pacientes tienen contacto en su medio con todos los alergenios en conjunto de cada ácaro.

No debemos olvidar que los extractos completos son mezclas complejas de distintos alergenios y que cada paciente reacciona de modo diferente. La presencia, contenido o predominio de cada alergenio puede además estar influenciada por la fase del ciclo en que se encuentre el cultivo de ácaros del que se ha obtenido el extracto<sup>75</sup>. Las técnicas recombinantes facilitan, en parte, esclarecer estos procesos y ayudan a entender la reactividad cruzada, en ocasiones escasa, que existe entre distintas especies<sup>76</sup>.

Entre *D. pteronyssinus* y *D. farinae* existe un alto grado de reactividad cruzada, lo cual se refleja en el hecho de que los individuos alérgicos a los *Dermatophagoides* presentan sensibilización cutánea a ambas especies. *E. maynei* muestra reactividad cruzada significativa con los *Dermatophagoides*, encontrándose envuelto el Der p 2<sup>77</sup>. Por otro lado, la reactividad cruzada entre los ácaros Pyriglyphidae y no-Pyriglyphidae es mínima o nula<sup>78</sup>. *B. tropicalis* presenta una mínima reactividad cruzada con los *Dermatophagoides* y alta reactividad cruzada *L. destructor*<sup>79</sup>. En regiones donde *B. tropicalis* es abundante y *L. destructor* no existe, la sensibilización a esta especie muy probablemente es provocada por epítomos alérgicos de *B. tropicalis* que tienen reactividad cruzada con *L. destructor*.

Los individuos alérgicos a *Dermatophagoides* spp pueden experimentar síntomas después del consumo de crustáceos y moluscos. Las proteínas Der f 10 y Der p 10 están implicadas en la reactividad cruzada con varios animales debido a la homología con la tropomiosina. Estudios inmunológicos han demostrado la reactividad cruzada entre

serpientes, crustáceos, y cucarachas con los ácaros del polvo. Sin embargo, los ácaros del polvo son generalmente la primera fuente de sensibilización de estos alérgenos.

El nematodo *Anisakis simplex* es un parásito común del pescado, que puede inducir reacciones alérgicas. Se ha observado reactividad cruzada entre este nematodo y los caros domésticos *A. siro*, *L. destructor*, *T. putrescentiae* y *D. pteronyssinus*<sup>79</sup>.

También se ha observado reactividad cruzada entre *D. pteronyssinus* y el parásito de los ácaros *Sarcoptes scabiei*<sup>80</sup>.



## **I. Control ambiental de los ácaros del polvo**

El control de los alérgenos en la vivienda no se consigue utilizando una sola medida. Es necesario un conjunto de medidas dirigidas a la totalidad de la vivienda para controlar la exposición a ácaros y sus alérgenos.

El control de los ácaros puede ser uno de los posibles tratamientos a las alergias provocadas por los alérgenos. Varios métodos han sido utilizados para el control y eliminación de los ácaros y sus alérgenos.

Las medidas de control ambiental de los ácaros y sus alérgenos se dividen en:

- métodos de limpieza, aislamiento, eliminación, desnaturalización e inactivación de los alérgenos (uso de aspiradoras, limpieza en húmedo, desnaturalización química y uso de fundas de plástico).
- métodos para matar ácaros (uso de acaricidas y alteraciones ambientales que directamente afectan a su supervivencia, como la disminución de la humedad, el aumento de la temperatura y la congelación).

La utilización de fungicidas para la eliminación de hongos se ha sugerido para el control de los ácaros, ya que los hongos parecen ser un factor importante para el crecimiento y supervivencia de los ácaros. La supresión de estos elementos en el sustrato natural podría ser un elemento básico en la disminución de la población de ácaros, demostrándose que tras sucesivos tratamientos la fecundidad se reduce<sup>81,82</sup>.

El uso de radiaciones ionizantes causa daños en la reproducción, fisiología y comportamiento de los ácaros. La exposición directa a rayos ultravioleta provoca una mortalidad elevada en los huevos en comparación con otros estados evolutivos, encontrándose, además, que el periodo de desarrollo, la fecundidad y el porcentaje de eclosionabilidad decrece con el incremento de la exposición en el tiempo.

En agricultura el uso de radiaciones ionizantes (radiaciones gamma), se usa para esterilizar machos y hembras como medidas de control de la población. A 250 Gy, los huevos puestos al llegar al estado adulto resultan estériles y a 250-300 Gy es efectivo con el objetivo de esterilizar a machos y a hembras<sup>83</sup>.

Algunos efectos en la reducción de los ácaros han sido obtenidos por el uso de acaricidas pero es imposible su completo control con el uso exclusivo de los mismos. Acarosan,

*Acarexan*, *Artilin 3A*, y *Allerbiocid* contienen benzoato de bencilo, un acaricida efectivo. El metil primifos, un insecticida con propiedades acaricidas, producen una reducción del 60% en la concentración de Der p 1 en alfombras y de más del 50% en muebles acolchonados. *Actelic 50* contiene metil primifos al 50% en solución y es usado como spray en alfombras y muebles. Es importante tener en cuenta que, aunque los ácaros pueden ser exterminados, los alérgenos permanecen estables por largo tiempo (varios años) en el polvo de la casa. Sin embargo antes de recomendar el uso de estos productos químicos es esencial establecer si su uso es tóxico para el hombre. Siendo por otro lado requisito conocer como deberían ser aplicadas cuando son combinadas con otros métodos preventivos.<sup>84,85</sup>

Basándose en los factores limitantes en el desarrollo del ciclo biológico, el número de ácaros puede ser reducido mediante una disminución en la humedad relativa<sup>86</sup>, o por un aumento de la temperatura<sup>87,88</sup>. El uso constante de aire acondicionado en las épocas de mayor calor modifica el clima interior de la vivienda que provoca una reducción en la densidad de ácaros<sup>89</sup>. Una ventilación deficiente ha sido también asociada con un aumento en los síntomas del asma y se ha obtenido una correlación inversa entre la concentración de ácaros y el número de cambios de aire en el interior de la vivienda<sup>90</sup>. Wickman et al.<sup>91</sup> encontraron que la humedad interior es un factor de riesgo para la sensibilización y el desarrollo de alergias en niños. La efectividad de los filtros de aire como medida de control ambiental es cuestionable y no existe consenso sobre su utilidad. Los sistemas de filtración de aire únicamente eliminan partículas en suspensión<sup>92,93</sup>.

Varios autores han intentado reducir la población acarina mediante modificaciones atmosféricas, pero los resultados son conflictivos<sup>94,95,96,97,98</sup>. Sin embargo, el uso de deshumificadores, que disminuyen significativamente la humedad relativa en los dormitorios de los pacientes asmáticos, podría ser eficaz en la terapéutica coadyuvante del tratamiento del asma bronquial por sensibilización a los ácaros el polvo doméstico.

Por otro lado métodos sencillos pero efectivos para la prevención del crecimiento de los ácaros son:

- Cambio semanal de sábanas y almohadas y cubre colchones una vez a la semana, a más de 50° C. Idealmente debería usarse un acaricida líquido.
- Cubrir colchones, almohadas y mantas con fundas de plástico anti-ácaros.

- Evitar la presencia alfombras, cortinas, juguetes de peluche y libros en la habitación.
- Pasar la aspiradora semanalmente a las alfombras, colchones y muebles.
- Usar insecticidas para controlar las cucarachas y mejorar la higiene.
- Intentar reducir la humedad relativa del dormitorio por debajo del 50% o la humedad absoluta por debajo de 7 g/Kg. por medio de un deshumidificador o e aire acondicionado.
- Utilización de detergentes acaricidas que causan una elevada mortalidad de la población acarina.
- Usar acaricidas cuando no se puedan retirar las alfombras. También puede usarse un acaricida para prevenir la colonización con ácaros.
- Limpiar regularmente los sistemas de aire acondicionado.

Sin embargo y a pesar de lo dicho, el efecto beneficioso para el control de los ácaros ha sido limitado. Nuevas colonias de ácaros pueden penetrar transportadas en ropas o alimentos o por migración de zonas no tratadas.

## **IV. OBJETIVOS**





**Los objetivos globales del estudio fueron:**

1. Establecer la prevalencia de pruebas cutáneas positivas a distintas especies de ácaros en pacientes con sospecha de alergia respiratoria y evaluados en varias consultas de alergia en la provincia de Alicante.
2. Identificar las especies de ácaros presentes en muestras de colchón de pacientes alérgicos a los ácaros en muestras de polvo recogidas en colchones de controles (pacientes no alérgicos a los ácaros).
3. Valorar si existen diferencias entre el nivel de ácaros en polvo de los colchones de los pacientes sensibilizados y de los sujetos no sensibilizados.
4. Valorar si existen diferencias entre el nivel de ácaros en muestras de polvo de colchones de residentes en la costa, con las muestras recogidas en viviendas del interior.
5. Determinar los niveles de exposición a los alergenos de ácaros Der p 1 y Der f 1 en las muestras recogidas.
6. Estudiar la sensibilización a las distintas especies de ácaros, *in vitro*, mediante la determinación de IgE específica en el suero de los pacientes alérgicos.
7. Establecer patrones de sensibilización *in vitro* a las distintas especies de ácaros en la población estudiada.
8. Analizar la reactividad cruzada entre las distintas especies de ácaros investigados.
9. Estudiar la implicación clínica de varias especies de ácaros en pacientes sensibilizados mediante provocaciones nasales y bronquiales específicas, midiendo la variación de la resistencia al flujo nasal mediante rinomanometría anterior activa, o PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>, respectivamente.

## **V. MATERIAL Y MÉTODOS**



## A. Estudio de una población de pacientes alérgicos de Alicante

### 1. Características de los pacientes estudiados

Entre los años 1999 y 2001 se estudiaron 164 pacientes que acudieron a nuestras consultas. Todos estos pacientes fueron evaluados siguiendo un mismo protocolo estandarizado de actuación. Para el diagnóstico de su patología respiratoria se aplicaron los criterios diagnósticos recogidos en varios consensos internacionales sobre la rinoconjuntivitis y el asma<sup>99,100,101,102</sup>. Estos pacientes fueron atendidos en 5 consultas de alergia de la provincia de Alicante situadas en las poblaciones de Alicante, Elche, Orihuela, Torreveja y Villena. Se analizaron 164 pacientes a los que se les realizó una anamnesis y una exploración física y pruebas funcionales (espirometría o rinomanometría basal). A continuación se le realizaron pruebas complementarias entre las que se incluyeron las cutáneas con alérgenos mediante prick test (punción) y extracción sanguínea para la determinación de IgE específica *in vitro* en aquellos pacientes con prueba cutánea positiva a los ácaros.

A los pacientes que accedieron, y firmaron un formulario de consentimiento, se les realizó provocación nasal o bronquial específica para ácaros. De los 164 pacientes estudiados, 91 (55,5%) presentaron pruebas cutáneas positivas, como mínimo, a una especie de ácaros. En este grupo de pacientes, 7 fueron diagnosticados con asma, 44 con rinoconjuntivitis y 40 con rinoconjuntivitis y asma. En este grupo se incluyeron 42 hombres y 39 mujeres. La media de edad de este grupo fue de 22 años  $\pm$  10,4 años.

El resto de los pacientes (25 hombres y 47 mujeres) no presentaron prueba cutánea positiva a ácaros, observándose polinosis en 14 pacientes y 2 adolescentes sensibilizados a epitelios. Los pólenes que más frecuentemente produjeron sensibilización fueron *Olea europea*, *Salsola kali* y *Parietaria judaica* y en menor número a Gramíneas. La edad media de este grupo fue 28  $\pm$  22 años. Tres de estos pacientes tenían rinoconjuntivitis y 23 fueron diagnosticados de asma. En el resto no se observó una patología respiratoria definida. La principal característica de este grupo fue que todos presentaron prueba cutánea negativa frente a ácaros y fue usado como control en la recogida de muestras de polvo de colchón para verificar si en la casa de los pacientes alérgicos a los ácaros había más ácaros que en los colchones de individuos no alérgicos a los ácaros. El suero de 10 de estos pacientes fue usado como control negativo en las determinaciones de IgE específica.

La inclusión de pacientes en el estudio tuvo lugar en clínicas situadas en ciudades de la costa (Torrevieja y Alicante) y del interior (Elche, Orihuela y Villena). También se incluyeron pacientes del residentes en Santa Pola (costa).

## 2. Pruebas cutáneas

A todos los pacientes se les realizó prueba cutánea con una batería de extractos estandarizados de Laboratorios LETI, S.L., incluyendo los ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *D. microceras*, *E. maynei*, *L. destructor*, *T. putrescentiae*, *B. tropicalis*, *A. siro*, pólenes de *Olea europaea*, *Cupressus arizonica*, *Platanus acerifolia*, pólenes de gramíneas: *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Cynodon dactylon*, *Poa pratense* y *Secale cereale*, pólenes de malezas: *Chenopodium album*, *Salsola kali*, *Parietaria judaica*, *Artemisia vulgaris*, *Plantago lanceolata*, el hongo *Alternaria alternata*, y los epitelios de perro y gato. También se utilizaron extractos no estandarizados de *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum*, *Cladosporium Herbarum*, *Phoenix dactylifera* y el epitelio de conejo, mezcla de plumas y las cucarachas *Blattella germanica* y *Periplaneta americana*. Esta batería se puede considerar como una batería estándar para el diagnóstico de alergia respiratoria en la zona de Alicante. La prueba cutánea se realizó siguiendo las indicaciones de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica<sup>103</sup>. Se utilizaron clorhidrato de histamina a 10 mg/ml y suero salino glicerado como controles positivos y negativos, respectivamente. Los extractos alergénicos se aplicaron sobre la superficie volar del antebrazo y se realizó el prick con una lanceta ALK-Abelló perpendicular a la piel con una profundidad de 1 mm. La respuesta fue leída a los 15 minutos de la punción y los resultados se expresaron como el tamaño en milímetros del diámetro mayor de la pápula. Una prueba se consideró positiva cuando el diámetro de la pápula era mayor de 3 mm.

En los sujetos que aceptaron la realización de la provocación respiratoria específica y firmaron el consentimiento informado, se realizaron pruebas alérgicas cutáneas por duplicado en la superficie de volar de ambos antebrazos, incrementándose la concentración del alérgeno en incrementos de 10 veces la concentración previa, desde 0,01 HEP/ml hasta alcanzar la concentración máxima de 100 HEP/ml. La provocación se inició con la concentración de extracto más baja que producía una pápula de 3 mm de diámetro. Para asegurar la estabilidad del extracto, éste fue liofilizado y se reconstituyó en el momento de

su utilización. Se utilizó el mismo lote de extracto para la prueba cutánea y para la provocación con ácaros. En los pacientes que presentaron sensibilización a ácaros, se realizó extracción sanguínea y se conservó el suero en congelador, para su posterior estudio *in vitro*.





una bolsa de plástico etiquetada con los datos del paciente. Posteriormente se almacenaban en un congelador para matar los ácaros presentes en la muestra, e impedir su reproducción.



**Figura 11.** Aspiradora modificada utilizada para recoger muestras de polvo



**Figura 12.** Filtro acoplado a la aspiradora

A continuación, en la tabla VII se describe la procedencia del número de las muestras recolectadas.

**Tabla VII.** Total de muestras de polvo recogidas y su procedencia

	<b>Residencia Costa</b>	<b>Residencia Interior</b>	<b>2º Residencia Costa</b>	<b>2ª Residencia Interior</b>	<b>Total</b>
<b>Alérgicos a los ácaros</b>	25	33	3	1	62
<b>No alérgicos a los ácaros</b>	22	41	9	0	72

### **1. Separación, montaje e identificación de los ácaros**

La separación de los ácaros presentes en la muestra se realizó mediante el método de suspensión modificado (Fernández-Caldas et al.<sup>104</sup>). Para ello se pesaron de cada muestra unos 20 mg de polvo, que se incubaron en un tubo de ensayo con aproximadamente 10 ml de solución saturada salina y unas gotas de ácido láctico. Después de al menos 3 minutos de incubación, se agitaron y se fueron vertiendo en pequeñas cantidades (aproximadamente 2 ml) en una placa de Petri de 5 cm de diámetro. Todos los ácaros presentes en las muestras se recogieron mediante una aguja enmangada usando una lupa binocular (Olympus SZX9) a 40 aumentos.

Los ácaros se montaron en preparaciones permanentes para su identificación al microscopio. El montaje de las preparaciones se realizó colocando una gota de medio de Hoyer en un portaobjetos, e introduciendo los ácaros recogidos de uno en uno en la gota. Una vez introducidos la totalidad de los ácaros de la muestra, se colocaba con mucho cuidado un cubre objetos sobre el porta. La preparación, una vez etiquetada, se colocaba sobre una placa calefactora a 50° C durante al menos 24 horas, para que se secase y transparentara. Posteriormente, y para asegurar el correcto secado de las mismas, se guardaron en una estufa a 25° C.

- Material usado:
  - Placa calefactora Desaga, Heidelberg
  - Portaobjetos Menzel-Glaser, 76x26 mm, Braunschweig
  - Cubreobjeto Menzel-Glaser, 22x22 mm, Braunschweig



- Soluciones y reactivos:

- Medio de Hoyer

Goma arábica.....	30,0 g
Hidrato de cloral.....	2,76g
Glicerol.....	20 ml
Agua destilda c.s.p.....	50 ml

La identificación se realizó mediante observación en microscopio óptico binocular (Olympus; BH2; 40 – 1.000 aumentos) de las preparaciones permanentes. La identificación se hizo utilizando claves dicotómicas de la bibliografía especializada<sup>25,26,29,105</sup>.



### C. Determinación de alérgenos mayores Der p 1 y Der f 1

Las muestras de polvo obtenidas fueron extraídas en PBS 1:20 (p/v) a 4° C en agitación continua (1.000 r.p.m.) durante 12h, tras lo cual fueron centrifugadas a 15.000 g durante 10 minutos, recogiendo el sobrenadante.

- Material usado:

- Centrífuga Dupon RC5C

- Soluciones y reactivos:

- PBS 0.01M

di-Potasio hidrogenofosfato.....	1.39g
Sodio dihidrogenofosfato monohidrato.....	0.2.7g
Cloruro sódico.....	8.70g
Agua destilada c.s.p.....	1L

La determinación de los niveles de los alérgenos Der p 1 y Der f 1 se realizó mediante inmunoensayo de ELISA usando anticuerpos monoclonales de INDOOR Biotechnologies Ltd., siguiendo las instrucciones del fabricante (Tabla VIII).

**Tabla VIII.** Anticuerpos monoclonales utilizados en la determinación de Der p1 y Der f 1.

<b>Especificidad</b>	<b>Anticuerpo Monoclonal (anti- Der 1)</b>	<b>Anticuerpo Monoclonal Biotinilado</b>
<b>Der p 1</b>	10B9 (2mg/ml en PBS)	5H8
<b>Der f 1</b>	6A8 (2 mg/ml en PBS)	4C1

- Se tapizaron los pocillos de una placa de micro titulación de poliestireno (Immobilon II) con 200 ng del anticuerpo por pocillo (dilución 1/1.000 del anticuerpo monoclonal) en tampón carbonato-bicarbonato 50 mM, pH 9,6.

- Se incubaron durante una noche a 4°C. Se lavaron 3 veces con PBS-0,05% Tween 20, pH 7,4 (PBS-T).
- Se incubaron durante 1 hora con 0,1 ml 1% BSA PBS-T al 1%
- Se lavaron 3 veces con PBS-T
- Se añadió 0,1 ml/pocillo de las diluciones del alérgeno patrón y de los extractos, y se incubaron durante 1 hora. Las muestras de los extractos se diluyeron en PBS 0,01 M en diluciones crecientes 2x, partiendo de una dilución inicial 1/20 del extracto inicial). Las diluciones de la curva patrón se calibraron entre 62,5 a 0,5 ng/ml Der p 1. La solución estándar de Der p 1 y Der f 1 tenía una concentración de 2.500 ng/ml y a partir de ella se realizaron las diferentes diluciones de la curva patrón.
- Se lavaron cinco veces con PBS-T
- Se añadió 0,1 ml/pocillo de una dilución 1/1.000 en PBS 0,01 M del anticuerpo monoclonal biotinilado correspondiente, y se incubaron durante 1 hora
- Se lavaron cinco veces con PBS-T
- Se añadió 0,1 ml/pocillo de una dilución 1/1.000 en PBS 0,01 M de streptavidina-peroxidasa, y se incubó durante media hora
- Se lavó cinco veces con PBS-T
- Se reveló añadiendo 0,1 ml/pocillo de solución de desarrollo hasta conseguir un color adecuado (Densidad óptica < 2)
- Se paró la reacción añadiendo 0,1 ml/pocillo de solución de parada
- Se midió la densidad óptica a 450 nm. Las lecturas de absorbancia son directamente proporcionales a la cantidad de alérgeno unidas a la fase sólida, y se interpolaron a partir de las respectivas curvas-patrón, obtenidas a partir de la solución estándar, o de referencia.
- **Material usado:**
  - Placas Immulon 2 (Chantilly, EEUU).
  - Lector de placas (Titertek Multiskan, Finlandia).
- **Soluciones y reactivos:**
  - PBS 0.1M (x10):
    - di-Potasio hidrogenofosfato..... 3,92g

- |                                           |        |
|-------------------------------------------|--------|
| Sodio dihidrogenofosfato monohidrato..... | 2,76g  |
| Cloruro sódico.....                       | 87,70g |
| Agua destilada c.s.p.....                 | 1L     |
- Tampón Carbonato/Bicarbonato 0.2M pH 9.2:

Tampón carbonato.....	21,12g/L
Tampón bicarbonato.....	16,80g/L
  - Solución de lavado:
    - PBS-Tween 0.05%:

PBS 0.1M (x10).....	100ml
Tween-20.....	0,5 ml
Agua destilada.....	1L
  - Solución de desarrollo:
    - Tampón de desarrollo:

Acetato sódico anhidro.....	13,3mg
Acido acético glacial.....	0,250ml
Agua destilada c.s.p.....	1L
    - Cromógeno:

Tetrametilbencidina (TMB).....	100mg
Dimetilsulfósido (DMS) c.s.p.....	10ml
    - Agua oxigenada.

Mezclar antes de su uso en las siguientes proporciones: Tampón desarrollo (1ml): Cromógeno (20 $\mu$ l): Agua oxigenada (2 $\mu$ l):

- Solución de parada:
  - Acido sulfúrico concentrado.....
 55.5ml |
  - Agua destilada.....
 1L |

## D. Determinación de la IgE específica mediante ELISA

La capacidad de unión de IgE de los sueros de los pacientes se determinó mediante la técnica de ELISA directo con los extractos de *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *E. maynei*, *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae* previamente preparados (Laboratorios LETI, S.L.). Los extractos se inmovilizaron en placas Immunolon IV (Chantilly, EEUU), a una concentración de 20 µg de proteína/ml en tampón carbonato/bicarbonato (0,2 M, pH = 9,2). Tras 12 horas de incubación a temperatura ambiente, las placas fueron lavadas con PBS-Tween 0,1% para posteriormente ser incubadas durante 2 horas con las muestras de sueros individuales. Las placas se lavaron con PBS-Tween 0,1% y a continuación se añadió αIgE-PO diluida en tampón PBS-Tween 0.1% con suero de ternera fetal 25%, heparina 1%, manteniéndose durante 2 horas en agitación y a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, la reacción de la peroxidasa fue desarrollada en tampón acetato (pH= 6), Tetrametil benzidina y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La reacción enzimática se detuvo añadiendo ácido sulfúrico 2N. Las lecturas se tomaron en un lector de placas (Titertek Multiskan, Finlandia) a 450 nm.

Los resultados fueron considerados positivos cuando el valor de la densidad óptica fue 2 veces superior al de la media de un control negativo, formado por 3 sueros de pacientes no sensibilizados a ácaros.

- **Soluciones y reactivos:**

Reactivos:

- Diluyente PBS-HEP-ST (Para la Anti-IgE PO):

Tween-20.....	0.04 ml
Suero de ternera fetal descomplementado.....	10 ml
Heparina 5%.....	0.4 ml
PBS 0.1M (x10).....	4 ml
Agua destilada c.s.p.....	40 ml

Solución de lavado:

- PBS-Tween 0.1%:

PBS 0.1M (x10).....	100 ml
Tween-20.....	1 ml
Agua destilada.....	1 L

## **E. Estudio de la reactividad cruzada entre los ácaros por inhibición de ELISA.**

El estudio de la reactividad cruzada se realizó mediante la técnica de ELISA inhibición. Para ello, se utilizó como referencia el extracto de *D. pteronyssinus* y se inhibió con *D. farinae*, *B. tropicalis*, *E. maynei*, *L. destructor*, *T. putrescentiae*, *C. arcuatus* y *G. domesticus*.

Extracto de *D. pteronyssinus* a 20 µg/ml de liofilizado fue utilizado para tapizar placas Immulon IV siguiendo la metodología previamente descrita en el punto anterior. Para el estudio de las inhibiciones con el resto de los ácaros, se realizaron diferentes diluciones seriadas de razón ½ en placas de baja absorbancia (Nunc, Roskilde, Dinamarca). A continuación, las diluciones se incubaron con un pool de sueros de pacientes con IgE específica positiva y se incubaron durante 2 horas. El pool de sueros esta compuesto de 9 sueros individuales (números: 38519, 136499, 149266, 153938, 149797, 147912, 105516, 67230, 11646). Transcurrido el tiempo, el contenido fue transferido a la placa donde se encontraba el extracto de *D. pteronyssinus* en fase sólida y se mantuvo en agitación constante y a temperatura ambiente. Después de 2 horas de incubación, la placa se lavó y se añadió αIgE-PO. El desarrollo de la reacción se realizó siguiendo el mismo procedimiento que en el punto anterior.

A partir de las lecturas de densidad óptica y las concentraciones para cada una de las especies de ácaros se obtuvo la recta de regresión, la cual debía cumplir los criterios de linealidad ( $r \geq 0.95$ ) y paralelismo (no existencia de diferencias significativas para la t de Student entre las rectas) entre los ensayos. El valor del 50% de inhibición fue obtenido para cada una de las especies.

## F. Características de los extractos de ácaros usados en este estudio

A partir de cultivos de ácaros (Laboratorios LETI, S.L.) se fabricaron extractos de cada una de las especies encontradas en mayor proporción. Estas especies fueron *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *E. maynei*, *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*. En los experimentos de inmunoblot también se usó un extracto de *C. arcuatus*.

Cultivos completos de estas especies de ácaros, conteniendo partículas fecales, heces y restos de comida en menor proporción (riqueza estimada superior al 80%) se pesaron y se extrajeron en una proporción 1/10 peso/volumen en PBS 0.01M durante 4 horas a 4°C y en agitación constante. Transcurrido el tiempo, las muestras fueron centrifugadas y el sobrenadante separado. El material precipitado fue nuevamente disuelto en PBS 0.01M y mantenido en agitación durante 16 horas. Transcurrido el tiempo, el material fue nuevamente centrifugado, y el sobrenadante recogido y mezclado con la fracción primera. El contenido total fue dializado mediante sistema Pellicon (Millipore, Bedford, USA) a través de membranas de 3 kDa. El volumen final obtenido fue congelado y liofilizado. El contenido proteico de los extractos fue evaluado mediante el método de Lowry-Biuret. (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA).

El contenido proteico de los extractos fue el siguiente:

*D. pteronyssinus*: 366 µg por mg de liofilizado

*D. farinae*: 331,2 µg por mg de liofilizado

*E. maynei*: 427,1 µg por mg de liofilizado

*B. tropicalis*: 356,65 µg por mg de liofilizado

*T. putrescentiae*: 529,2 µg por mg de liofilizado

*L. destructor*: 399,9 µg por mg de liofilizado

Igualmente se preparó un extracto experimental de *C. arcuatus* para la realización de los inmunoblots, pero que no fue incluido en las determinaciones de IgE específicas ni en el estudio de reactividad cruzada. El contenido proteico de este extracto fue: 288,3 µg por mg de liofilizado.

El contenido de alérgenos mayores para *D. pteronyssinus* y *D. farinae* fue el siguiente:

Der p 1: 20,35 µg por mg de liofilizado y de Der p 2: 15,3 µg por mg de liofilizado

Der f 1: 19 µg por mg de liofilizado y de Der f 2: 13 µg por mg de liofilizado.

## 1. Electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE)

El perfil proteico de los extractos se determinó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS) según el método de Laemmli<sup>106</sup> modificado y utilizando el sistema Miniprotean II de BioRad (Richmond, VA, EEUU). Para ello se utilizaron geles con sistema discontinuo, con diferentes proporciones de archilamida/bisacrilamida entre la parte preparadora (4%T, 2,67%C) y separadora (15%T, 2,67%C). La polimerización fue inducida mediante la adicción de persulfato amónico, acelerando el proceso añadiendo tetrametiletilendiamina (TEMED).

Las muestras se cargaron en el gel a una concentración de 30 µg de liofilizado/pocillo, previamente reducidas con el fin de desnaturalizar los puentes disulfuro. Para ello, se disolvieron en tampón de muestras que contenía glicerol, SDS, azul de bromo fenol 2%, agua y β-mercaptoetanol. A continuación, las muestras fueron calentadas a 95°C durante 10 minutos y centrifugadas durante 1 minuto a 10.000 r.p.m.

Junto con las muestras se corrió un patrón de masas moleculares (Estándar Low Molecular Weight; BioRad, Richmond, VA, EEUU) para determinar las masas moleculares de las bandas proteicas más significativas.

Para la tinción del gel se utilizó kit de tinción con plata (BioRad, Richmond, VA, EEUU). El gel se mantuvo en solución fijadora durante 45 minutos y a continuación se añadió la solución oxidante durante 5 minutos. Transcurrido el tiempo, el gel fue lavado con agua hasta obtener un gel totalmente transparente y a continuación incubado con Nitrato de plata durante 20 minutos. Posteriormente se añadió la solución de desarrollo; el proceso se detuvo con la adicción de tampón ácido acético/metanol.

Los geles se secaron en un secador de geles Modelo 583 (BioRad Richmond, VA, EEUU) durante 3 horas a 80° C.

### • Soluciones y reactivos utilizados

#### Reactivos:

- Tampón gel pH = 8,45:

TRIS.....	363,4 g
SDS.....	3 g
Agua destilada c.s.p.....	100 ml
Llevar a pH 8,48 con HCl 0,1M	



- Solución TRIS-HCl 0,5M pH = 6,8:
 

TRIS.....	6 g
Agua destilada c.s.p.....	100 ml
Llevar a pH 6,88 con HCl 0,1M	
  
- Solución Stock monómero (30%T;2,67C)..... Bio-Rad
  
- Solución Stock SDS 10%:
 

SDS.....	10 mg
Agua destilada c.s.p.....	100 ml
  
- Tampón muestras, condiciones reductoras:
 

Agua destilada...4ml	
TRIS-HCl 0,5M pH =6,8.....	1 ml
Glicerol.....	0,8 ml
SDS 10%.....	1,6 ml
2-B-Mercaptoetanol.....	0,4 ml
Bromofenol blue 2%(p/v).....	0,2 ml
  
- Tampón muestras, condiciones no reductoras:
 

Agua destilada.....	4,4 ml
TRIS-HCl 0,5M pH =6,8.....	1 ml
Glicerol.....	0,8 ml
SDS 10%.....	1,6 ml
Bromofenol blue 2%(p/v).....	0,2 ml

**Composición del patrón de masas moleculares:**

<b>Proteína</b>	<b>Masa moleculares (Kilodaltons)</b>
Fosforilasa B	97.4
Albúmina sérica	66.2
Ovoalbumina	45
Anhidrasa carbónica	31
Inhibidor de tripsina	21.5
Lisozima	14.4

### Minigeles:

- Gel separador (16,5% T; 3,3% C):

Agua destilada.....	1,63 ml
Tampón gel.....	2,67 ml
Glicerol.....	0,867 ml
Solución stock: acrilamida/bisacrilamida 40% T	3,3 ml
APS 10%.....	30 µl
TEMED.....	3 µl
- Gel empaquetador (4% T, 2,67% C):

Agua destilada.....	1,52 ml
TRIS 1.5 M pH = 8.8.....	625 µl
SDS 10%.....	25 µl
Solución stock acrilamida/bisacrilamida 30% T	333 µl
APS 10%.....	12,5 µl
TEMED.....	2,5 µl

### Reactivos tinción con plata

- Solución fijadora:

Metanol.....	400 ml
Acido acético glacial.....	100 ml
Agua destilada.....	1 L
- Solución oxidante:

Oxidizer concentrado.....	10 ml
Agua destilada.....	100 ml
- Solución de plata:

Concentrado de plata.....	10 ml
Agua destilada.....	100 ml
- Solución desarrollo:

Tinción de desarrollo de plata.....	3,2 g
Agua destilada.....	100 ml

- Solución de parada:

Ácido acético glacial.....	50ml
Agua destilada.....	1 L

## 2. Inmunoblot

Este procedimiento fue utilizado para la transferencia de proteínas desde los geles de poliacrilamida a membranas de PVDF (Immobilon-P, Millipore, Bedford, USA) a fin de determinar la capacidad de dichas bandas de reconocer la IgE específica presente en un pool de sueros de la población de pacientes. Tras la separación en geles de poliacrilamida, las proteínas fueron electrotransferidas a membranas, previo tratamiento de las mismas en metanol y equilibrado en tampón de transferencia. La transferencia se llevó a cabo utilizando el sistema de transferencia de Miniprotean II de BioRad (Richmond, VA, EEUU).

La membrana fue incubada con pool de sueros (el mismo que se usó para el estudio de la reactividad cruzada) durante toda la noche y en agitación constante. Transcurrido el tiempo, la membrana se lavó en tampón PBS/Tween y posteriormente fue incubada con  $\alpha$ IgE-PO (Ingenasa, Madrid, España) disuelta en PBS-Tween 01% en cantidad suficiente para cubrir las tiras, y se dejó durante 2 horas. Posteriormente la membrana fue lavada de nuevo en PBS-Tween y desarrollada en presencia de peróxido de hidrogeno y Tetrametil benzidina. La reacción se detuvo eliminando la solución de teñir y sumergiendo la membrana en agua.

## G. Pruebas de provocación nasal y bronquial

### 1. Provocaciones nasales

Se realizaron pruebas de provocación nasal con extractos estandarizados de *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *L. destructor* y *T. putrescentiae* en un grupo de 24 pacientes sensibilizados a *Dermatophagoides* spp. con el objetivo de valorar la implicación clínica de estos ácaros que indujeron prueba cutánea positiva en los pacientes, midiendo el incremento de la resistencia nasal mediante rinomanometría anterior activa.

Todos estos pacientes residían en el área geográfica de la Vega Baja (Orihuela y Torreveja de la provincia de Alicante) y tuvieron una prueba cutánea positiva a *Dermatophagoides* spp. a una concentración de 100 HEP/ml (Laboratorios LETI S.L.). También se les realizó pruebas alérgicas con extractos estandarizados de *T. putrescentiae* y *L. destructor* de la misma compañía comercial.

Los pacientes fueron divididos en 3 grupos:

- Grupo A formado por 10 pacientes 6 hombres y 4 mujeres, edad media de 19,5 años. Se realizó provocación nasal con extracto estandarizado de *D. pteronyssinus* a estos 10 pacientes y con *D. farinae* a 8 de estos mismos pacientes.
- Grupo B formado por 10 pacientes, 4 hombres y 6 mujeres, edad media de 21 años. Se realizó provocación nasal con *L. destructor* en estos 10 pacientes y en 6 de ellos también con *Dermatophagoides* spp. Nueve de estos pacientes presentaban prueba cutánea positiva para *L. destructor*. Un paciente con prueba cutánea negativa para *L. destructor* y positiva a *D. pteronyssinus* fue usado como control.
- Grupo C, formado por 4 pacientes, 2 hombres y 2 mujeres, edad media de 24 años. Se realizó provocación nasal con *T. putrescentiae* y con *Dermatophagoides* spp. en todos los pacientes. Tres pacientes presentaban prueba cutánea positiva para *T. putrescentiae*. Un paciente con prueba cutánea negativa para *T. putrescentiae* y positiva a *D. pteronyssinus* fue usado como control.

En total se realizaron 42 provocaciones nasales. Todos los pacientes suspendieron la administración de corticoides nasales en las 3 semanas previas y la ingesta de antihistamínicos 5 días antes de la realización de la provocación nasal. Al inicio de la

prueba, el paciente permaneció durante 30 minutos en la sala de exploraciones para facilitar que la mucosa nasal se aclimatara a las condiciones locales.

La respuesta nasal fue monitorizada por el número de estornudos y por el incremento de la resistencia nasal. La provocación nasal específica fue realizada mediante rinomanometría anterior activa con un rinomanómetro DatoSpir-164 (Sibelmed, Barcelona, España) (Figura 10). Los valores de la resistencia nasal se expresaron en Pa.s/c m<sup>3</sup>. Con el incremento de la resistencia nasal se determinó la positividad del test. Primero, se realizó una rinomanometría basal para determinar el estado de vía respiratoria nasal. En caso de existir obstrucción severa no se continuó con la provocación. Posteriormente fue instalada mediante difusión 0,1 ml de PBS en una fosa nasal y si con la rinomanometría se observaba un incremento significativo de la resistencia nasal, la prueba también se suspendía.



**Figura 13.** Rinomanómetro DatoSpir –164

La provocación nasal se realizó mediante la administración del extracto alergénico en intervalos de 15 minutos, incrementándose cada dosis 10 veces sobre la previa. Los extractos se aplicaron en el mismo orificio nasal mediante un difusor que dispensaba una dosis fija de 0,1 ml de solución. La respuesta nasal fue medida 10 minutos después de cada provocación. Se consideró una respuesta nasal positiva cuando la resistencia nasal se incrementó por encima del 100% sobre la solución control (PBS). Entonces se daba por finalizada la provocación<sup>107,108</sup>. En caso de no producirse una respuesta positiva, se

incrementó la dosis administrada hasta alcanzar la dosis de 100 HEP/ml. Todos los pacientes firmaron el protocolo dando su consentimiento por escrito antes de la prueba de provocación.

## **2. Provocaciones bronquiales**

Se realizó la prueba de provocación bronquial específica con *D. pteronyssinus* a 30 pacientes que presentaban asma con sensibilización a *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. En este grupo se incluyeron 15 hombres y 15 mujeres (edad media de los 30 pacientes  $30,6 \pm 7,4$  años). La prueba de provocación bronquial específica fue realizada siguiendo el método de Cockcroft<sup>109</sup> con algunas modificaciones para adaptarla a los alérgenos específicos<sup>110</sup>. Ningún paciente realizó tratamiento en los días anteriores con fármacos broncodilatadores (1 día), corticoides, cromonas o antileucotrienos (3 semanas) ya que estos fármacos pueden alterar el resultado de la provocación. Todas las pruebas fueron realizadas entre las 9 de la mañana y la 1 de la tarde para evitar posibles variaciones del ritmo circadiano. En total se realizaron 30 provocaciones bronquiales.

Los resultados fueron expresados como la cantidad de unidades HEP necesarias para conseguir un descenso del FEV<sub>1</sub> (PC<sub>20</sub>FEV<sub>1</sub>). Las inhalaciones conteniendo concentraciones variables de los alérgenos fueron generadas por un nebulizador Hudson 1720 (Temecula, Cal, EEUU) con flujo continuo de entrada de 7 L/min. y un flujo de salida de 0,17 ml/min. Antes de comenzar la prueba de provocación bronquial específica, se realizó a todos los pacientes una espirometría basal. Si los valores del FEV<sub>1</sub> se encontraban por encima del 70% del valor teórico, se comenzaba con una provocación control con PBS, respirando a volumen corriente durante dos minutos con la nariz ocluida con una pinza. A continuación se medían los valores de FEV<sub>1</sub> mediante espirometría y se valoraba la existencia de hiperreactividad bronquial al diluyente o variabilidad intensa (superior al 7% sobre la espirometría basal). En caso de existencia de hiperreactividad bronquial se suspendía la prueba, continuándose con la prueba de provocación bronquial en caso de tras la realización de varias mediciones del FEV<sub>1</sub>, éstas eran inferiores al 7%.

A continuación se comenzaba con la administración inhalatoria del extracto de *D. pteronyssinus*. La maniobra de inhalación se realizaba con respiración a volumen corriente durante 2 minutos. A los 20 minutos de cada inhalación se determinaba el valor de FEV<sub>1</sub>,

incrementando la concentración de alérgenos en 10 veces si el resultado era negativo. El test finalizaba cuando se producía un descenso del FEV<sub>1</sub> en un 20%, o más, con respecto al valor alcanzado con el control de PBS.

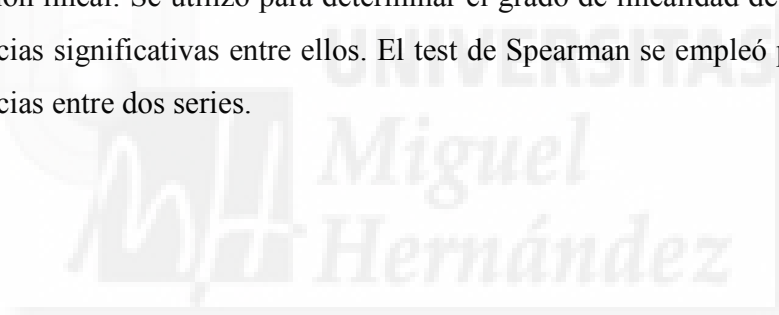
El resultado de la provocación se expresó como la concentración de alérgeno que produce una caída del 20% en el FEV<sub>1</sub> (PC<sub>20</sub>), y se estima por extrapolación de las dos últimas concentraciones administradas. Si alcanzada la concentración máxima de alérgeno (100 HEP/ml) no se producía un descenso del 20% en el FEV<sub>1</sub>, se consideraba que la provocación había sido negativa. Todos los pacientes fueron informados previamente a la prueba y firmaron el consentimiento por escrito.



## **H. Métodos estadísticos**

Para el análisis de los resultados, se utilizó el paquete estadístico StatView v. 4,53 (Abacus Concepts Inc.). Las diferentes pruebas estadísticas que se utilizaron se describen a continuación.

- Estadística descriptiva: media aritmética y desviación estándar y media geométrica y rango.
- Tablas de contingencia (tablas 2x2). Se utilizó para la comparación de niveles entre dos grupos independientes.
- Comparaciones entre grupos diferentes. Para el estudio comparativo de grupos se utilizaron tests paramétricos y no paramétricos, atendiendo al test de normalidad de Shapiro Wilks, para las comparaciones entre series de datos: U de Mann-Whytney, Kruskal-Wallis y ANOVA con corrección del test de Bonferroni.
- Regresión lineal: Se utilizó para determinar el grado de linealidad de las rectas y las diferencias significativas entre ellos. El test de Spearman se empleó para valorar las diferencias entre dos series.





## **VI. RESULTADOS**



## A. Prevalencia de alergia a los ácaros en Alicante

### 1. Prevalencia de sensibilización a distintas especies de ácaros

Se analizaron los resultados de las pruebas alérgicas cutáneas a ácaros en una serie de pacientes alérgicos. En todos los pacientes se realizaron pruebas cutáneas mediante prick con extractos de los siguientes ácaros: *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *D. microceras*, *E. maynei*, *L. destructor*, *T. putrescentiae*, *B. tropicalis*, *A. siro* y *G. domesticus*. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla IX.** Prevalencia de pruebas cutáneas positivas a las distintas especies de ácaros

Nº Paciente	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>D. microceras</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>	<i>A. siro</i>
104298	+	+	+	+	-	-	+	+
904432	+	-	+	-	-	-	+	+
A-821	+	+	+	+	-	-	-	-
A-808	+	+	+	+	-	+	-	-
102106	+	+	+	+	-	-	+	-
A-966B	+	+	+	+	-	-	-	-
A-1204	+	+	+	+	+	+	-	-
A-199	+	-	-	-	-	-	-	-
A-920	+	+	+	-	-	-	+	-
A-1312	+	+	+	+	-	+	+	-
A-1304	+	+	+	+	-	-	-	-
A-1259	+	+	+	+	-	-	-	-
A-662	+	+	+	+	+	+	+	-
A-1058	+	+	+	+	-	-	-	-
A-1286	+	+	+	+	-	-	-	-
A-1333	+	+	+	+	+	+	-	-
A-1331	+	+	+	+	-	-	-	-
A-1293	+	-	-	+	-	-	-	-
13144	+	+	-	+	-	-	-	-
28353	+	-	-	+	-	-	+	-
A-1422	+	+	-	+	-	-	+	+
A-1428	+	+	+	+	-	-	-	-
69719	+	+	+	+	-	-	+	+
68936	+	+	-	-	-	-	-	-
11477	+	+	+	+	+	+	+	+
68497	+	+	+	+	-	-	+	+
98675	+	+	+	+	-	-	-	-
37057	+	+	+	+	-	-	-	-
103355	+	+	+	+	-	-	-	-
101536	+	+	+	+	-	-	-	-
101041	+	+	-	-	-	+	+	-
19826	+	+	+	-	-	-	-	-
E-154c	+	+	+	-	-	-	-	-
V-172	+	+	+	+	-	-	-	-
E-341	+	+	+	-	-	-	-	-

**Tabla IX (continuación).** Prevalencia de pruebas cutáneas positivas a las distintas especies de ácaros

Nº Paciente	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>D. microceras</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>	<i>A. siro</i>
60202	+	+	+	+	-	-	+	-
98174	+	+	+	+	-	-	-	-
41831	+	+	+	+	-	-	-	-
98508	+	+	+	+	-	-	-	-
132987	+	+	+	+	-	-	-	-
66081	+	+	+	+	-	-	-	-
98809	+	+	+	+	-	-	-	-
E-551	+	+	+	-	-	-	-	-
99094	+	+	+	+	-	-	-	+
100750	+	+	-	-	-	+	+	-
1T	+	+	-	-	+	+	-	-
2T	+	+	+	-	-	-	-	-
3T	+	+	+	-	-	+	+	-
4T	+	+	+	-	-	+	+	+
5T	+	+	+	+	-	+	+	+
6T	+	+	-	-	-	+	+	+
7T	+	+	+	+	-	+	+	+
8T	+	+	+	+	-	+	+	+
9T	+	+	-	-	-	+	+	+
10T	+	+	+	+	+	-	+	-
11T	-	-	-	+	-	+	-	-
12T	+	+	+	+	-	-	-	-
13T	+	+	+	+	-	+	-	-
14T	+	+	-	+	-	-	-	-
15T	+	+	+	+	-	-	-	-
16T	+	+	-	+	-	-	-	-
17T	+	+	+	+	-	+	-	-
18T	+	+	+	+	-	+	+	-
19T	+	+	+	+	-	-	-	-
20T	+	+	+	+	-	-	-	-
21T	+	+	+	+	-	+	+	+
22T	+	+	+	+	-	-	+	-
23T	+	+	+	+	-	-	-	-
24T	+	+	+	+	-	-	-	-
25T	-	+	+	-	-	-	-	-
26T	+	+	+	-	-	+	+	-
28T	+	+	+	+	-	+	+	-
29T	+	+	+	+	-	-	+	-
30T	+	+	+	+	-	+	+	-
31T	+	+	+	+	-	+	-	-
32T	+	+	+	+	-	-	-	+
33T	+	+	+	+	+	+	-	-
34T	+	+	+	+	-	+	-	+
35T	+	-	+	+	-	-	-	-
36T	+	+	+	+	-	+	-	-
37T	+	+	+	+	-	+	-	-
38T	+	+	+	+	-	-	-	-

**Tabla IX (continuación).** Prevalencia de pruebas cutáneas positivas a las distintas especies de ácaros

Nº Paciente	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>D. microceras</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>	<i>A. siro</i>
39T	+	+	+	+	+	+	-	-
40T	+	+	+	+	-	-	-	-
41T	+	+	+	+	-	+	-	-
42T	+	+	+	-	-	-	-	-
43T	+	+	-	+	-	-	-	-
44T	+	+	+	+	-	+	+	-
45T	+	+	+	-	+	-	+	-
46T	+	+	+	+	+	+	+	+
47T	+	+	+	+	-	+	-	-

Todos estos pacientes estaban sensibilizados como mínimo a una especie de ácaros. En la siguiente tabla (Tabla X) se muestran los porcentajes de pacientes de costa e interior sensibilizados a cada una de las especies de ácaros. También se incluye el porcentaje total de pacientes sensibilizados a las especies de ácaros independientemente de su procedencia geográfica.

**Tabla X.** Porcentajes de sensibilización a las distintas especies de ácaros. Se incluyen el porcentaje de todos los pacientes y divididos por su procedencia de costa o interior

Especies	En general* (n = 91)	Costa (n = 68)*	Interior (n = 23)*
<i>D. pteronyssinus</i>	97,8	97,1	100
<i>D. farinae</i>	93,4	91,2	100
<i>D. microceras</i>	83,5	82,4	87,0
<i>E. maynei</i>	78,0	80,9	69,6
<i>B. tropicalis</i>	11,0	13,2	4,3
<i>L. destructor</i>	37,4	45,6	13,0
<i>T. putrescentiae</i>	35,2	38,2	26,1
<i>A. siro</i>	18,7	19,1	17,4

\* Resultados expresados en porcentajes del total

Se observa que los pacientes están sensibilizado a una media geométrica de  $4,5 \pm 1,4$  especies de ácaros por paciente. Al determinar la prevalencia por localización geográfica de los pacientes, no encontramos diferencias significativas en la prevalencia de sensibilizaciones a las especies estudiadas entre costa ( $4,7 \pm 1,4$  especies) e interior ( $4,2 \pm$

1,2 especies);  $p > 0,05$ . Los porcentajes de sensibilizaciones a las distintas especies de ácaros estudiadas se muestran en la tabla XI.

**Tabla XI.** Porcentajes de sensibilización a las distintas familias de ácaros en general y entre costa e interior.

	<b>General (%)</b>	<b>Costa (%)</b>	<b>Interior (%)</b>
<b>Pyrglyphidae</b>	100	100	100
<b>Glycyphagidae</b>	39,6	48,5	13,0
<b>Acaridae</b>	38,5	41,2	30,4

Se observan diferencias significativas en la prevalencia de sensibilizaciones a los ácaros Glycyphagidae entre costa e inferior (Fisher  $p = 0,0028$ ), utilizando un test de contingencia.



## B. Mapa Acarológico de Alicante

### 1. Resultados cualitativos

A continuación indicamos las 16 especies de ácaros identificadas en el total de las muestras y por localización geográfica (costa o interior). Se identificaron 9 especies del orden Astigmata, 4 del orden Prostigmata, 1 del orden Oribatida y 2 del orden Mesostigmata. La **X** denota presencia de cada especie. Nueve especies se encontraron tanto en la costa como en el interior, cuatro estaban presentes sólo en la costa y 3 fueron identificadas exclusivamente en el interior.

**Tabla XII.** Localización de las distintas especies de ácaros

	TOTAL	COSTA	INTERIOR
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	X	X	X
<i>Dermatophagoides farinae</i>	X	X	X
<i>Euroglyphus maynei</i>	X	X	X
<i>Blomia tropicalis</i>	X		X
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	X	X	
<i>Glycyphagus domesticus</i>	X	X	X
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	X	X	
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	X	X	X
<i>Histiostoma feroniarum</i>	X	X	
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus eruditus</i>	X	X	X
<i>Cheyletus tenuipilis</i>	X	X	X
Familia Tarsonemidae	X	X	X
Suborden Endeostigmata	X		X
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	X	X	X
Orden Mesostigmata			
Familia Phytoseiidae	X		X
Familia Ascidae	X	X	

## 2. Resultados cuantitativos

A continuación se muestran los resultados cuantitativos en el total de las muestras analizadas.

**Tabla XIII.** Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de la provincia de Alicante (n=134)

	<b>Frecuencia</b> (% muestras positivas)	<b>MG*</b> (ácaros/gramo)	<b>Rango</b> (ácaros/gramo)
<b>Ácaros</b>	81.3	173,12	5586-17
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	54.5	115,96	3584-17
<i>Dermatophagoides farinae</i>	51.5	133,74	3855-17
<i>Euroglyphus maynei</i>	3.0	83,24	194-19
<i>Blomia tropicalis</i>	1.5	83,52	313-22
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	2.2	71,56	255-33
<i>Glycyphagus domesticus</i>	3.0	46,67	192-17
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	0.7	24,51	-
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	3.7	33,44	49-24
<i>Histiostoma feroniarum</i>	2.2	64,53	192-22
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus spp.</i>	6.7	43,90	130-24
<b>Familia Tarsonemidae</b>	1.5	34,45	54-22
<b>Suborden Endeostigmata</b>	0.7	45,66	-
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	6.7	70,57	1954-15
Orden Mesostigmata			
<b>Familia Phytoseiidae</b>	0.7	4,55	-
<b>Familia Ascidae</b>	0.7	76,63	-

MG\*: Media geométrica.

### 3. Comparación de la fauna acarológica en colchones de pacientes alérgicos y controles.

Las principales especies de ácaros identificadas en los colchones de los pacientes alérgicos a los ácaros, al igual que sus medias geométricas, se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla XIV.** Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de pacientes alérgicos a los ácaros (n = 62)

	<b>Frecuencia</b> (% muestras positivas)	<b>MG*</b> (ácaros/gramo)	<b>Rango</b> (ácaros/gramo)
<b>Ácaros</b>	88.7	157,6	3.183-18
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	56.5	112,4	2.769-17
<i>Dermatophagoides farinae</i>	56.5	108,8	1.708-17
<i>Euroglyphus maynei</i>	3.2	40,0	85-19
<i>Blomia tropicalis</i>	1.6	22,3	
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	1.6	254,8	
<i>Glycyphagus domesticus</i>	4.8	65,3	192-30
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	1.6	24,5	
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	3.2	29,8	30-29
<i>Histiostoma feroniarum</i>	1.6	63,3	
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus spp.</i>	6.5	33,8	49-26
<i>Familia Tarsonemidae</i>	1.6	53,8	
<i>Suborden Endeostigmata</i>	1.6	45,7	
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	12.9	80,4	1.954-15
Orden Mesostigmata			
<i>Familia Phytoseiidae</i>	1.6	4,5	
<i>Familia Ascidae</i>	1.6	76,6	

MG\* = media geométrica



La frecuencia y abundancia de las especies de ácaros identificadas en las muestras recolectadas en los colchones de pacientes no alérgicos a los ácaros se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla XV.** Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en los colchones de pacientes no alérgicos a los ácaros (n = 72)

	<b>Frecuencia</b> (% muestras positivas)	<b>MG*</b> (ácaros/gramo)	<b>Rango</b> (ácaros/gramo)
<b>Acaros</b>	75	190,5	5.586-17
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	52,8	119,4	3.584-19
<i>Dermatophagoides farinae</i>	47,2	165,4	3.855-22
<i>Euroglyphus maynei</i>	2,8	173,3	194-155
<i>Blomia tropicalis</i>	1,4	312,5	
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	2,8	37,9	44-33
<i>Glycyphagus domesticus</i>	1,4	17	
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>			
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	4,2	36,1	49-24
<i>Histiostoma feroniarum</i>	2,8	65,2	192-22
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus spp.</i>	6,9	54,1	130-24
Familia Tarsonemidae	1,4	22,1	
Suborden Endeostigmata			
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	1,4	24,9	
Orden Mesostigmata			
Familia Phytoseiidae			
Familia Ascidae			

MG\*= Media geométrica

**4. Comparación de la fauna acarológica en muestras recogidas en la costa o en el interior.**

Se muestra la frecuencia de aparición y abundancia de las especies de ácaros identificadas en las muestras recolectadas en la costa de la provincia de Alicante

**Tabla XVI.** Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas de la costa (n = 59)

	<b>Frecuencia</b> (% muestras positivas)	<b>MG*</b> (ácaros/gramo)	<b>Rango</b> (ácaros/gramo)
<b>Ácaros</b>	93,2	325,69	5.586-18
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	72,9	205,73	3.584-21
<i>Dermatophagoides farinae</i>	57,6	216,67	3.855-18
<i>Euroglyphus maynei</i>	1,7	193,7	-
<i>Blomia tropicalis</i>	-	-	-
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	5,1	71,56	255-33
<i>Glycyphagus domesticus</i>	5,1	65,31	192-30
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	1,7	24,51	-
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	3,4	44,66	49-41
<i>Histiostoma feroniarum</i>	5,1	64,53	192-22
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus spp.</i>	10,2	53,14	130-24
<b>Familia Tarsonemidae</b>	1,7	22,08	-
<b>Suborden Endeostigmata</b>	-	-	
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	8,5	88,3	1.954-15
Orden Mesostigmata			
<b>Familia Phytoseiidae</b>	-	-	-
<b>Familia Ascidae</b>	1,7	76,6	-

MG\*= media geométrica

La prevalencia y abundancia de las especies de ácaros identificadas en las muestras recolectadas en el interior de la provincia de Alicante se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla XVII.** Frecuencia y abundancia de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas del interior (n = 75)

	<b>Frecuencia</b> (% muestras positivas)	<b>MG*</b> (ácaros/gramo)	<b>Rango</b> (ácaros/gramo)
<b>Ácaros</b>	72,0	90,95	731-17
Orden Astigmata			
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	40	50,99	533-17
<i>Dermatophagoides farinae</i>	46,7	83,70	584-17
<i>Euroglyphus maynei</i>	4	62,81	155-19
<i>Blomia tropicalis</i>	2,7	83,52	313-22
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	-	-	-
<i>Glycyphagus domesticus</i>	1,3	17,04	-
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	-	-	-
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	4,0	27,57	30-24
<i>Histiostoma feroniarum</i>	-	-	-
Orden Prostigmata			
<i>Cheyletus spp.</i>	4	29,91	34-26
<b>Familia Tarsonemidae</b>	1,3	53,76	-
<b>Suborden Endeostigmata</b>	1,3	45,7	-
Orden Oribatida			
<i>Cosmochthonius simplex</i>	5,3	53,3	228-25
Orden Mesostigmata			
<b>Familia Phytoseiidae</b>	1,3	4,55	-
<b>Familia Ascidae</b>	-	-	-

MG\* = media geométrica

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los resultados, incluyendo la frecuencia de aparición de las distintas especies de ácaros según localización geográfica de las muestras y

el estado alérgico o no alérgico de los individuos. En esta tabla no se incluyen las muestras recogidas en las segundas residencias.

**Tabla XVIII.** Frecuencia (%) de las distintas especies de ácaros en muestras de colchones recolectadas en viviendas de pacientes alérgicos y no alérgicos residentes en la costa y en el interior.

	COSTA		INTERIOR	
	ACARINICO n = 24	NO ACARINICO n = 21	ACARINICO n = 32	NO ACARINICO n = 41
<b>Ácaros</b>	95,8	95,2	87,5	61
Orden Astigmata				
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	75	90,5	50	31,7
<i>Dermatophagoides farinae</i>	54,2	47,6	59,4	36,6
<i>Euroglyphus maynei</i>		4,8	6,3	2,4
<i>Blomia tropicalis</i>			3,1	2,4
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	4,2	9,5		
<i>Glycyphagus domesticus</i>	12,5			2,4
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	4,2			
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>		4,8	6,3	2,4
<i>Histiostoma feroniarum</i>	4,2	9,5		
Orden Prostigmata				
<i>Cheyletus spp.</i>	4,2	19,0	9,4	
<i>Familia Tarsonemidae</i>		4,8	3,1	2,4
<i>Suborden Endeostigmata</i>				
Orden Oribatida				
<i>Cosmochthonius simplex</i>			6,3	
Orden Mesostigmata				
<i>Familia Phytoseiidae</i>			3,1	
<i>Familia Ascidae</i>	4,2			

## 5. Análisis de los resultados

El análisis estadístico de los resultados consistió en la comparación de los niveles, y de la frecuencia de aparición de alguna especie de ácaro, *D. pteronyssinus* y *D. farinae* entre las dos zonas estudiadas (costa e interior), así como entre pacientes alérgicos y no alérgicos.

### a. Diferencias entre costa e interior

En la costa existen niveles significativamente mayores (Mann-Whitney) que en el interior, de número total de ácaros ( $p < 0,0001$ ), *D. pteronyssinus* ( $p < 0,0001$ ) y *D. farinae* ( $p = 0,0278$ )

También en la costa, el número de colchones con *D. pteronyssinus* es significativamente mayor que en el interior (Fisher;  $p < 0,0001$ ). En este caso no hay diferencia para *D. farinae*.

### b. Diferencias entre alérgicos y no alérgicos

No existen diferencias entre las poblaciones de ácaros, *D. pteronyssinus* y *D. farinae* de casas de alérgicos y no alérgicos. Tampoco hemos observado diferencias significativas en el número de colchones con ácaros en ambos grupos.

### c. Diferencias entre alérgicos y no alérgicos de costa e interior

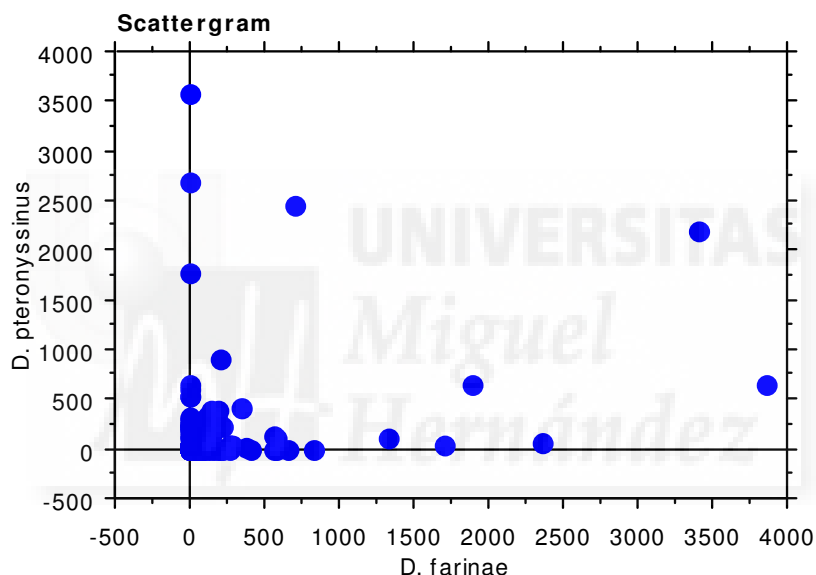
En las muestras procedentes del interior de la provincia, los colchones de los alérgicos tenían mayores niveles de *D. pteronyssinus* que los no alérgicos (M-W;  $Z = 1,841$ ;  $p = 0,0376$ ). Este hecho no se ha observado en la costa. En el caso de *D. farinae* y del total de ácaros no se han observado diferencias entre los niveles en colchones de alérgicos y no alérgicos tanto en la costa como en el interior.

Analizando las diferencias entre costa e interior según las muestras procedieran de pacientes alérgicos y no alérgicos (excluyendo las muestras de 2ª residencias), se ha observado niveles significativamente superiores (Mann-Whitney) de: número total de ácaros y *D. pteronyssinus* en las muestras de colchones de costa, tanto de alérgicos (total de ácaros  $p = 0,0153$ ; *D. pteronyssinus*  $p = 0,0254$ ) como no alérgicos (total de ácaros  $p < 0,0001$ ; *D. pteronyssinus*  $p < 0,0001$ ), respecto a las muestras de interior. Además, había un número significativamente mayor de colchones con *D. pteronyssinus* en las muestras de alérgicos

(Fisher;  $p = 0,0011$ ) y no alérgicos (Fisher;  $p < 0,0001$ ) de costa respecto a las muestras de alérgicos y no alérgicos del interior.

#### d. Correlación entre *D. pteronyssinus* y *D. farinae*

Aunque *D. pteronyssinus* y *D. farinae* aparecieron en un número muy similar de muestras, se detectó que cuando una especie era abundante, la otra estaba en niveles muy bajos, tal y como se muestra en la próxima figura. El estudio estadístico de estos resultados demuestra que existe una correlación negativa, estadísticamente significativa entre ambas especies.



**Figura 14.** Relación entre las poblaciones de *D. pteronyssinus* y *D. farinae* Spearman:  $Z = 2,081$ ;  $p = 0,0374$

#### 6. Descripción de las principales especies encontradas

Se han encontrado 16 especies de ácaros en las muestras de polvo de colchón en Alicante, pertenecientes a 4 órdenes distintos (Astigmata, Prostigmata, Oribatida y Mesostigmata). El orden mas representado es el Astigmata con 9 especies diferentes, los ácaros Prostigmata están representados por cuatro especies, mientras que los órdenes Mesostigmata y Oribatida sólo se han encontrado dos y una especie respectivamente.

***Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Pyroglyphidae.

**Ubicación habitual:** muy frecuente y abundante en domicilios (colchones, almohadas, alfombras...). Suele ser el ácaro dominante en estos biotopos.

**Distribución:** cosmopolita. Es la especie más frecuente, parece ser más abundante en Europa que en América. Prefiere climas más húmedos y suaves que *D. farinae*. En España se le encuentra en todas las regiones.

**Tamaño:** 350 µm.

**Datos biológicos:**

Duración ciclo huevo-adulto: 31 días

Longevidad hembra: 70 días

Fecundidad: 120 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** induce sensibilización alérgica (asma, dermatitis) en pacientes por inhalación o contacto de sus alérgenos. Hasta la fecha se han caracterizado más de 10 alérgenos, aunque los principales son Der p1 (glicoproteína procedente de las excretas del ácaro) y Der p 2 (proteína procedente del cuerpo del ácaro). Presenta una reactividad cruzada alta con *D. farinae*, *D. microceras* y *E. maynei*.



**Figura 15.** *D. pteronyssinus*



***Dermatophagoides farinae* (Hughes, 1961)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Pyroglyphidae.

**Ubicación habitual:** muy frecuente y abundante en el interior de domicilios (alfombras, colchones...).

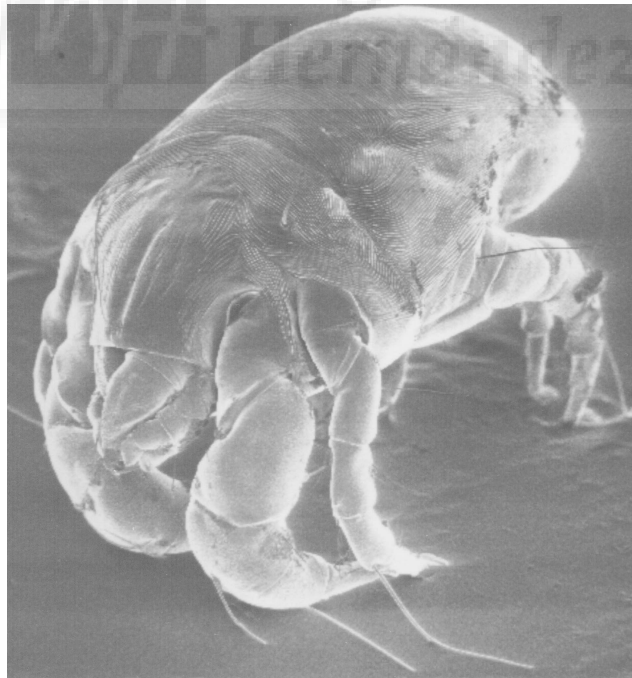
**Distribución:** cosmopolita. Es la segunda especie más abundante globalmente, aunque es más abundante y frecuente en América del Norte que en Europa. Parece preferir climas más continentales y áridos que *D. pteronyssinus*. En España es muy abundante en las provincias mediterráneas.

**Tamaño:** 360-400  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 35 días; Longevidad hembra: aprox 70 días; Fecundidad: 80 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** induce sensibilización alérgica (asma, dermatitis) en pacientes por inhalación de sus alérgenos, de los que se han caracterizado 11, siendo los principales Der f 1 (glicoproteína procedente de las excretas del ácaro) y Der p 2 (proteína procedente del cuerpo del ácaro). Presenta una reactividad cruzada alta con *D. pteronyssinus*, *D. microceras* y *E. maynei*.



**Figura 16.** *D. farinae*

***Euroglyphus maynei* (Cooreman, 1950)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Pyroglyphidae.

**Ubicación habitual:** frecuente en domicilios

**Distribución:** cosmopolita. En España es común, especialmente frecuente y abundante en la cornisa norte.

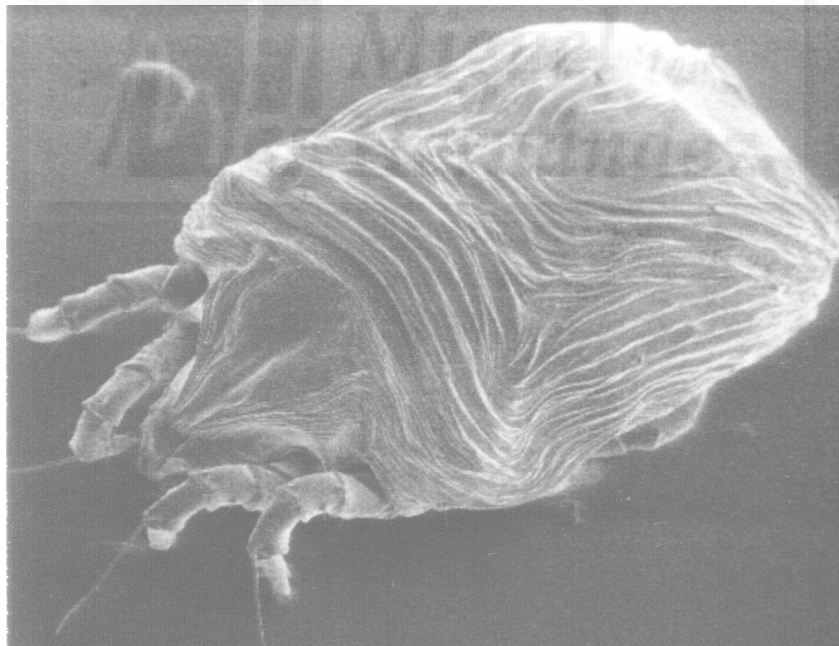
**Tamaño:** 280  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 33 días

- Fecundidad: 84 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** induce sensibilización alérgica (asma, dermatitis) en pacientes por inhalación de sus alergenios. Los alergenios descritos de esta especie son Eur m 2 y Eur m 14. Presenta una reactividad cruzada alta con *D. pteronyssinus* y *D. farinae*.



**Figura 17.** *E. maynei*

***Blomia tropicalis* Bronwijk, Cock y Oshima, 1973**

**Orden; Familia:** Astigmata; Echimyopodidae.

**Ubicación habitual:** productos almacenados y polvo doméstico.

**Distribución:** muy abundante en regiones tropicales y subtropicales. En España es muy frecuente en Canarias.

**Tamaño:** 320-457  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 23 días
- Longevidad hembra: 58 días
- Fecundidad: 28 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** *B. tropicalis* en regiones tropicales y subtropicales puede ser el ácaro doméstico más abundante, siendo el principal causante de enfermedades alérgicas como asma, rinitis y dermatitis atópica. Se han descrito una decena de alérgenos de esta especie.



**Figura 18.** *B. tropicalis*

***Lepidoglyphus destructor* (Schrank, 1781)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Glycyphagidae.

**Ubicación habitual:** productos almacenados y polvo doméstico.

**Distribución:** cosmopolita. Es común por todas partes en España, especialmente en zonas rurales

**Tamaño:** 420-560  $\mu\text{m}$

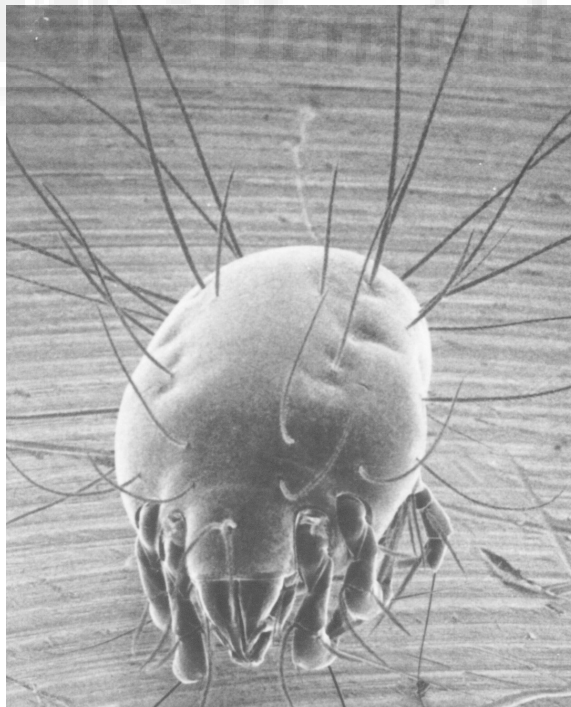
**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 24 días

- Longevidad hembra: 20-25 días

- Fecundidad: 120-130 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** este ácaro se ha descrito como causa de enfermedades alérgicas (asma bronquial, rinoconjuntivitis) en personas expuestas a ambientes donde se almacenaban alimentos, sin embargo en los últimos años se han citado numerosos casos de alergia en otros ambientes, especialmente domésticos. Se han descrito 5 alérgenos, aunque el alérgeno principal de *L. destructor* es Lep d 2 relacionado con el tracto gastrointestinal. Presenta reactividad cruzada alta con *G. domesticus*, *B. tropicalis* y *D. farinae*.



**Figura 19.** *L. destructor*

***Glycyphagus domesticus* (De Geer, 1778)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Glycyphagidae.

**Ubicación habitual:** relativamente abundante en almacenes de alimentos y granos. También está presente en polvo doméstico.

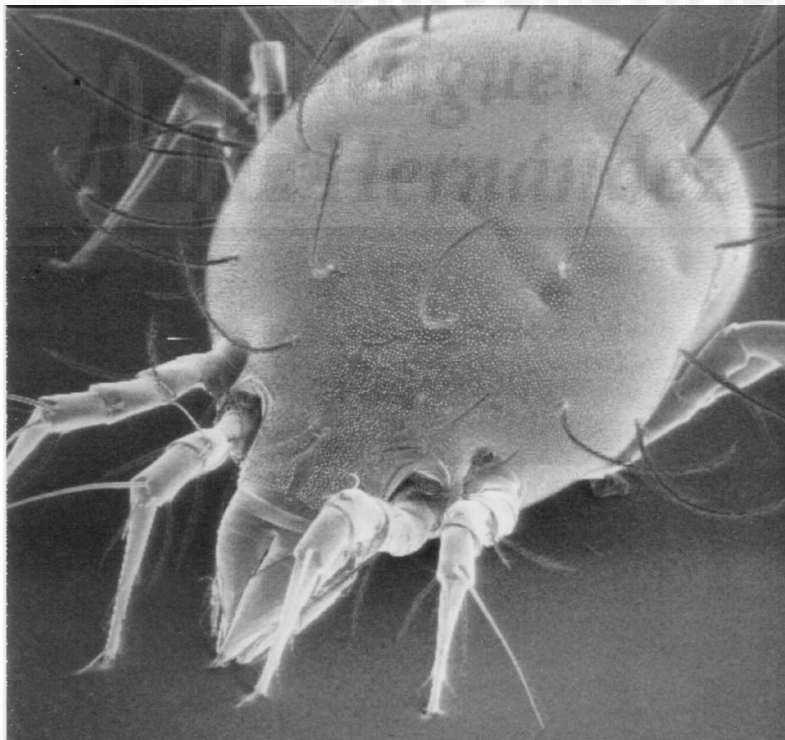
**Distribución:** paleártica, más frecuente en climas templados. En España es común., especialmente en zonas rurales.

**Tamaño:** 400-750  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 22 días

**Datos epidemiológicos:** se han citado casos de dermatitis en manipuladores de alimentos contaminados con este ácaro. También produce síntomas alérgicos en pacientes sensibilizados. Se ha descrito el alérgeno Gly d 2. Presenta una reactividad cruzada alta con *L. destructor* y *T. putrescentiae*, y baja con *D. pteronyssinus* y *A. siro*.



**Figura 20.** *G. domesticus*



***Chortoglyphus arcuatus* (Troupeau, 1879)**

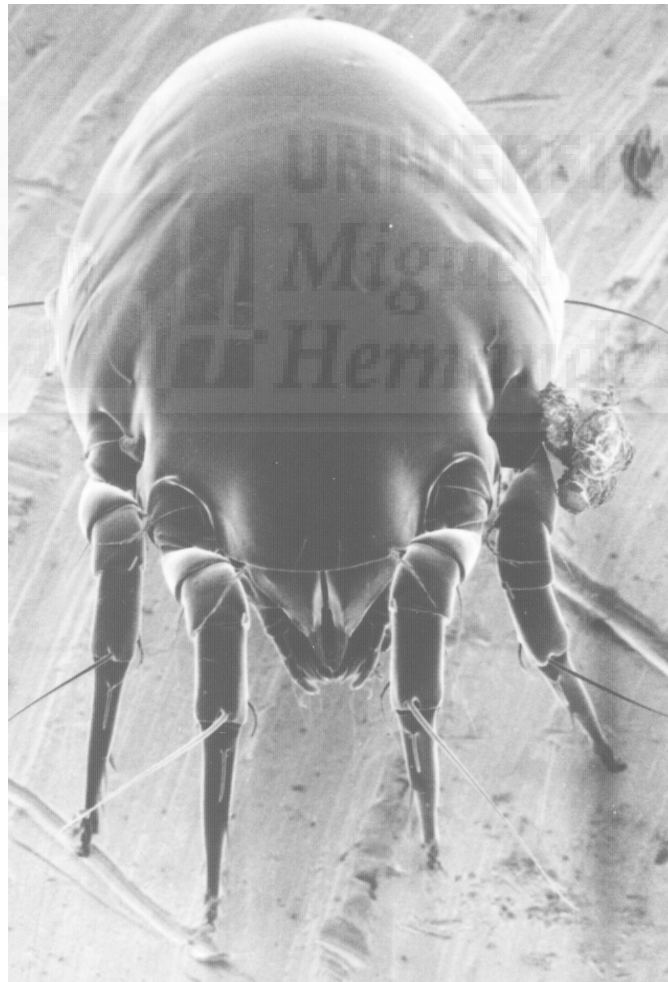
**Orden; Familia:** Astigmata; Chortoglyphidae.

**Ubicación habitual:** relativamente abundante en polvo de granjas, graneros y almacenes, también está presente en polvo doméstico.

**Distribución:** se ha citado en Europa, Asia y América del Sur. En España es abundante en Galicia y cornisa Cantábrica.

**Tamaño:** 350-400  $\mu\text{m}$

**Datos epidemiológicos:** se han detectado sensibilización a este ácaro en pacientes, especialmente granjeros, en contacto con productos contaminados. Tiene reactividad cruzada baja con *D. pteronyssinus*.



**Figura 21.** *C. arcuatus*

***Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Acaridae.

**Ubicación habitual:** especie micófaga, muy frecuente en productos almacenados (cereales, legumbre, semillas, frutos...) especialmente en alimentos con alto contenido de grasas y/o proteínas. Presente ocasionalmente en casas, especialmente en cocinas y despensas.

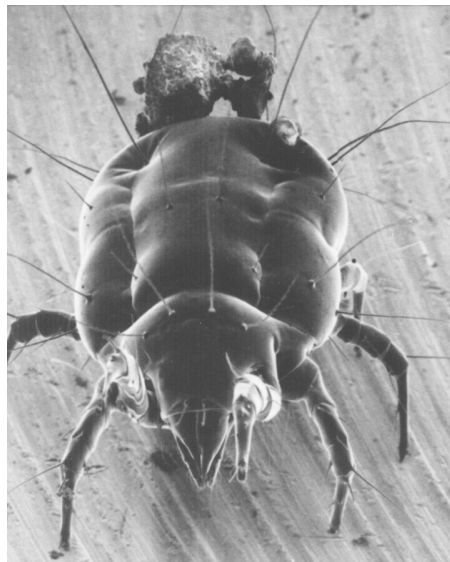
**Distribución:** cosmopolita. En España es común tanto en polvo doméstico como en cocinas y despensas.

**Tamaño:** 320-410  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 14 días
- Longevidad hembra: 18-20 días
- Fecundidad: 327-380 huevos/hembra

**Datos epidemiológicos:** puede causar asma bronquial y rinoconjuntivitis en ambientes rurales o en personas que trabajen en contacto con alimentos contaminados. También se han descrito reacciones alérgicas a la ingestión de estos alimentos. Se ha caracterizado de este ácaro el alergeno principal Tyr p 2. Presenta una reactividad cruzada alta con otros ácaros de productos almacenados como *A. siro*, *G. domesticus* y *L. destructor*.



**Figura 22.** *T. putrescentiae*

***Histiostoma feroniarum* (Dufour, 1839)**

**Orden; Familia:** Astigmata; Histiostomidae.

**Ubicación habitual:** especie mico-bacteriófaga, asociada generalmente a elevadas humedades. Presente en productos almacenados, alimentándose de hongos y ocasionalmente en casas. Sus *hipopus* son transportados por los insectos.

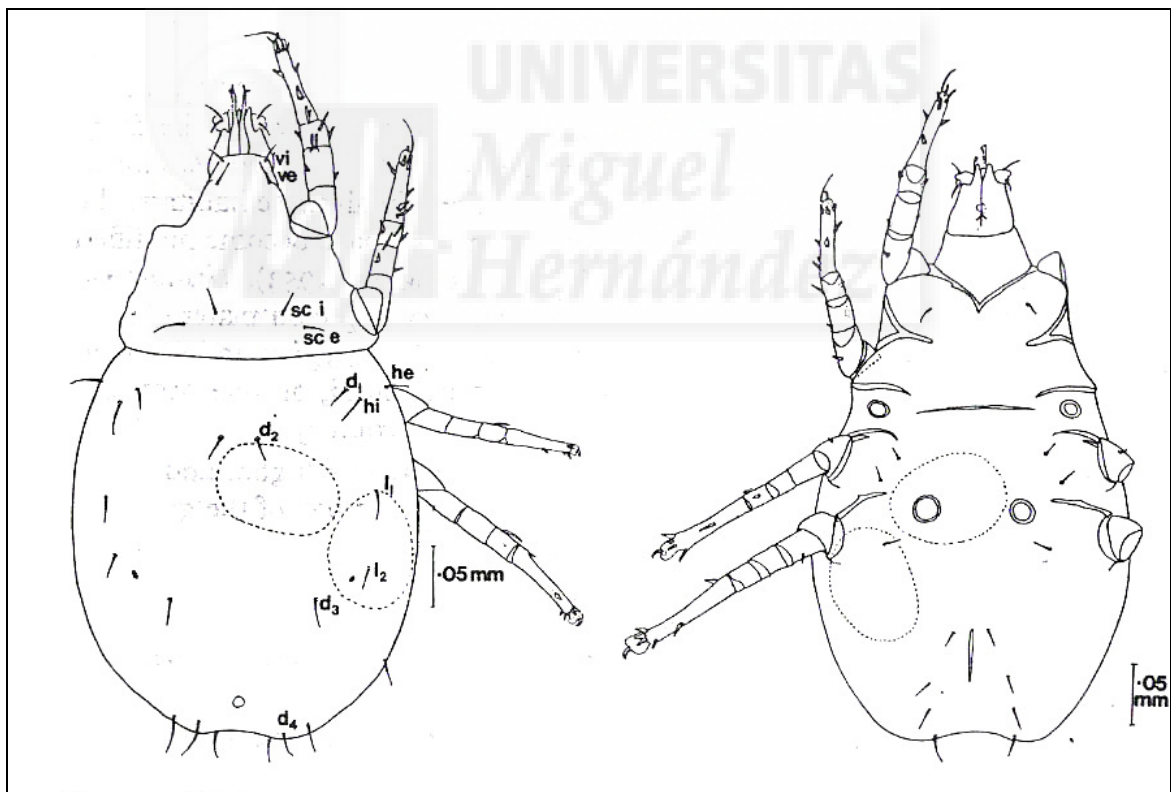
**Distribución:** cosmopolita. En España es común, aunque siempre de forma escasa, en polvo doméstico.

**Tamaño:** 400-700  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

- Duración ciclo huevo-adulto: 2 - 4 días

**Datos epidemiológicos:** se desconoce la capacidad alergénica de este ácaro



**Figura 23. *Histiostoma feroniarum***



***Cheyletus eruditus* (Schrank, 1781)**

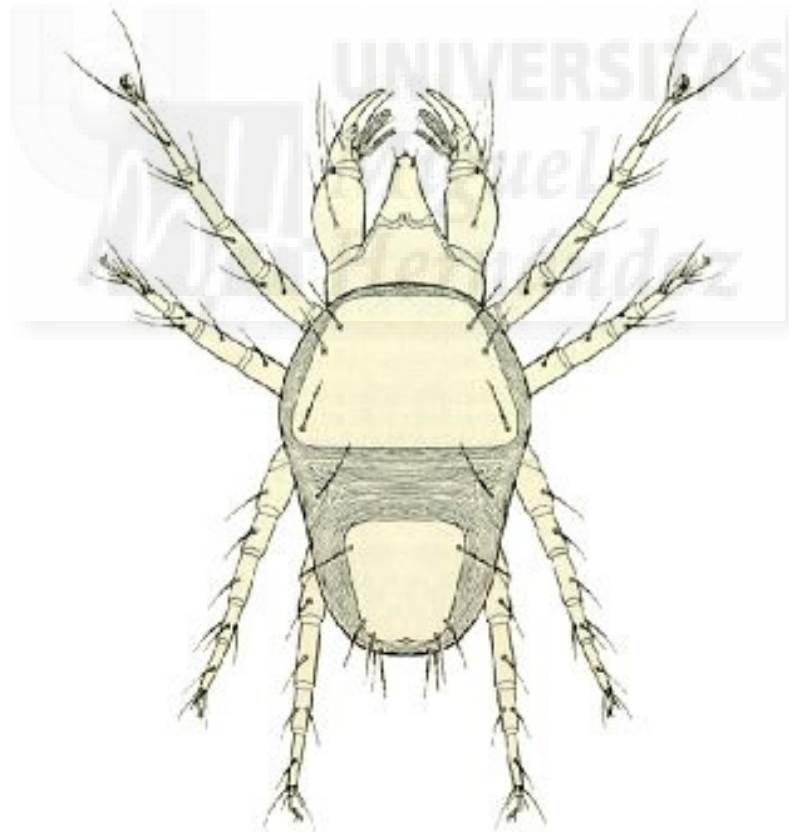
**Orden; Familia:** Prostigmata; Cheyletidae

**Ubicación habitual:** se alimenta de otras especies de ácaros, por lo que depende de la abundancia de sus presas. Frecuente en almacenes de grano. Presente en el polvo doméstico

**Distribución:** cosmopolita, citándose en varias regiones españolas.

**Tamaño:** 400-650  $\mu\text{m}$

**Datos epidemiológicos:** se han detectado sensibilizaciones a este ácaro, aunque no se conocen en detalle los alérgenos implicados. Se han descrito casos de urticaria papular producida por las picaduras de este ácaro.



**Figura 24.** *Cheyletus eruditus*

***Cheyletus tenuipilis* Fain et al, 1980**

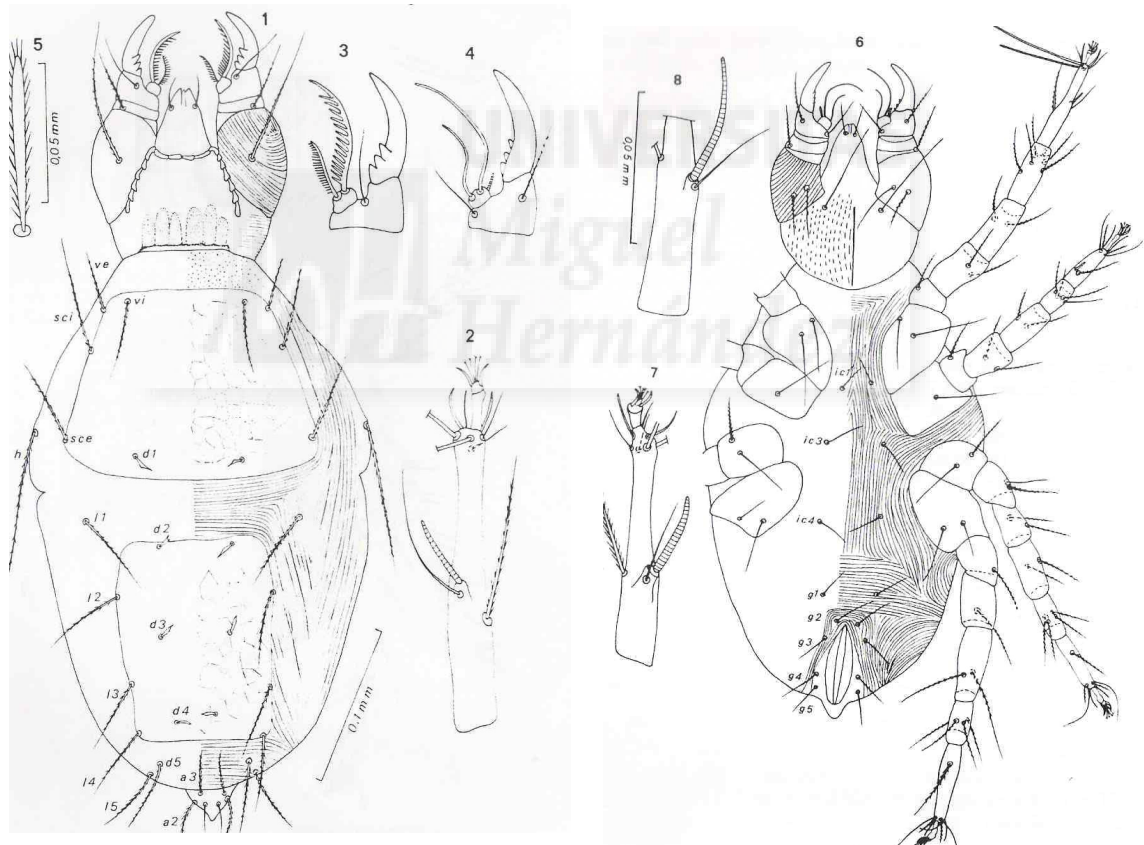
**Orden; Familia:** Prostigmata; Cheyletidae

**Ubicación habitual:** se alimenta de otras especies de ácaros. Prefiere alimentarse de *Dermatophagoides* que de otras especies como *Chortoglyphus*.

**Distribución:** Ha sido citado en Bélgica, Suiza, Israel y Australia

**Tamaño:** 350  $\mu$ m

**Datos epidemiológicos:** se han detectado sensibilizaciones a este ácaro en pacientes previamente sensibilizados a *Dermatophagoides*, aunque se desconoce la importancia alérgica.



**Figura 25.**

***Cheyletus tenuipilis* hembra en vista dorsal    *Cheyletus tenuipilis* hembra fase ventral**

***Tarsonemus granarius* Lindquist, 1972**

**Orden; Familia:** Prostigmata; Tarsonemidae

**Ubicación habitual:** especie micófaga. Es muy frecuente en graneros y productos almacenados, aunque ha sido citado en polvo doméstico, a veces en números muy elevados.

**Distribución:** Cosmopolita

**Tamaño:** 160  $\mu\text{m}$

**Datos biológicos:**

**Datos epidemiológicos:** se han detectado sensibilizaciones a este ácaro, pero se desconoce la importancia alérgica.



**Figura 26.** *Tarsonemus* sp.

***Cosmochthonius (Haplochtonius) simplex* (Willmann, 1930)**

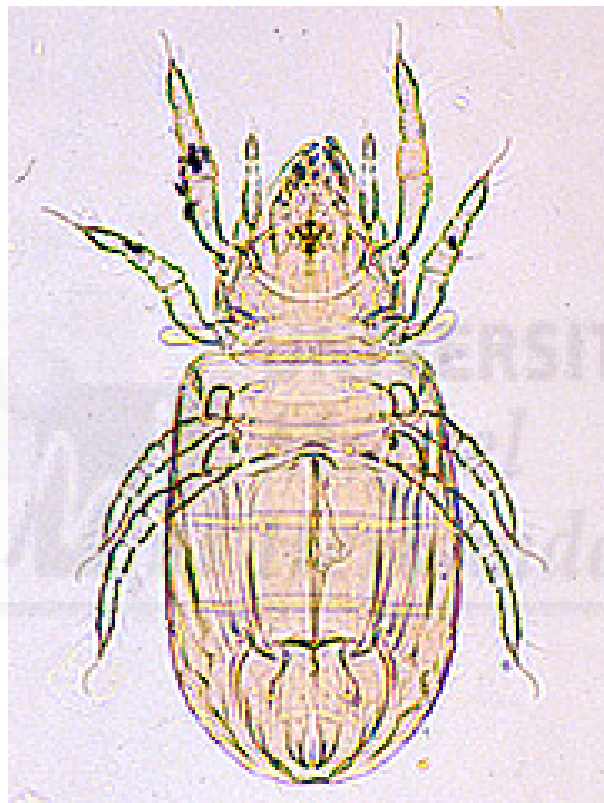
**Orden; Familia:** Oribatida; Cosmochthonidae

**Ubicación habitual:** Es una especie frecuente en ambientes de interior. También ha sido citado en cuevas.

**Distribución:** cosmopolita. Entre otros sitios ha sido citado en España, Finlandia, Polonia, Georgia, Brasil y Japón.

**Tamaño:** 250 micras

**Datos epidemiológicos:** se desconoce la capacidad alergénica de este ácaro



**Figura 27. *Cosmochthonius (Haplochtonius) simplex***

Además de estas especies se han encontrado ejemplares sin identificar de la familia Endeostigmata (Orden Prostigmata), de hábitos micófagos, y ejemplares de las familias Phytoseiidae y Ascidae (Orden Astigmata), que pueden ser tanto depredadoras como alimentarse de materia orgánica u hongos.



### C. Niveles de Der p 1 y Der f 1 en las muestras estudiadas

En las siguientes tablas se muestran los niveles de Der p 1 y Der f 1 expresados en  $\mu\text{g/g}$  de polvo en el total de las muestras analizadas, en la costa y en el interior, y se incluyen los porcentajes de muestras con concentraciones superiores a 0,2 y 10  $\mu\text{g}$  por gramo de polvo.

**Tabla XIX.** Niveles de alérgenos del Grupo 1 (Der p 1 y Der f 1) en el total de las muestras (n=133)

	<b>MG</b>	<b>Rango</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Der p 1</b>	3,5	63,9-0,6	50,4	31,6	9,8
<b>Der f 1</b>	10,7	143,7-0,9	57,9	51,1	28,6
<b>Grupo 1</b>	10,6	143,7-0,6	74,4	65,4	41,4

**Tabla XX.** Niveles de alérgenos del Grupo 1 (Der p 1 y Der f 1) en muestras de polvo de la costa (n=59)

	<b>MG</b>	<b>Rango</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Der p 1</b>	5,2	63,9-0,6	71,2	55,9	20,3
<b>Der f 1</b>	13,1	143,7-0,9	66,1	54,2	37,3
<b>Grupo 1</b>	14,8	143,7-0,6	89,8	79,7	57,6

**Tabla XXI.** Niveles de alérgenos del Grupo 1 (Der p 1 y Der f 1) en muestras de polvo del interior (n=73)

	<b>MG</b>	<b>Rango</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Der p 1</b>	1,9	16,4-0,6	32,4	10,8	1,4
<b>Der f 1</b>	8,7	54,2-1,3	48,6	47,3	20,3
<b>Grupo 1</b>	7,3	54,2-0,6	62,2	54,1	28,3

En las siguientes tablas se muestran los niveles de Der p 1 y Der f 1 en las muestras recolectadas en colchones de pacientes alérgicos a los ácaros y no alérgicos a los ácaros, incluyéndose los porcentajes de muestras con concentraciones superiores a 0, 2 y 10  $\mu\text{g}$  por gramos de polvo.

**Tabla XXII,** Niveles de alérgenos del Grupo 1 (Der p 1 y Der f 1) en muestras procedentes de pacientes alérgicos a los ácaros (n = 61)

	<b>MG</b>	<b>Rango</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Der p 1</b>	4,7	63,9-1	49,2	34,4	13,1
<b>Der f 1</b>	10,1	143,7-1,2	59	52,5	24,6
<b>Grupo 1</b>	10,5	143,7-1	78,7	68,9	41

**Tabla XXIII** Niveles de alérgenos del Grupo 1 (Der p 1 y Der f 1) en muestras de procedentes de pacientes no alérgicos a los ácaros (n = 72)

	<b>MG</b>	<b>Rango</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Der p 1</b>	2,8	19,4-0,6	51,4	29,2	6,9
<b>Der f 1</b>	11,2	138,3-0,9	56,9	50,0	31,9
<b>Grupo 1</b>	10,7	138,3-0,6	70,8	62,5	41,7

En las siguientes tablas se muestran los niveles de Der p 1, Der f 1 y total de Grupo 1 en las muestras recolectadas en colchones de pacientes alérgicos a los ácaros y no alérgicos a los ácaros, según su localización geográfica (costa o interior) incluyéndose los porcentajes de muestras con concentraciones superiores a 0, 2 y 10 µg por gramos de polvo.

**Tabla XXIV.** Niveles de Der p 1 en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente

<b>Der p 1</b>		<b>MG</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Costa</b>	Acarínicos	6,5	66,7	50,0	25,0
	No acarínicos	5,9	81,0	71,4	23,8
<b>Interior</b>	Acarínicos	2,8	35,5	19,4	3,2
	No acarínicos	1,3	31,7	4,9	0

**Tabla XXV.** Niveles de Der f 1 en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente

<b>Der f 1</b>		<b>MG</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Costa</b>	Acarínicos	15,2	50	45,8	29,2
	No acarínicos	12	61,9	42,9	38,1
<b>Interior</b>	Acarínicos	8,1	58,1	54,8	16,1
	No acarínicos	9,8	43,9	43,9	24,4

**Tabla XXVI.** Niveles de alergenios del Grupo 1 en muestras según su procedencia geográfica y la sensibilización del paciente

<b>Grupo 1</b>		<b>MG</b>	<b>% &gt;0</b>	<b>%&gt;2</b>	<b>%&gt;10</b>
<b>Costa</b>	Acarínicos	12,9	83,3	66,7	54,2
	No acarínicos	15,1	90,5	85,7	52,4
<b>Interior</b>	Acarínicos	8,0	71,0	67,7	25,8
	No acarínicos	6,7	53,7	43,9	29,3

### **1. Análisis estadístico de los resultados**

El análisis estadístico de los resultados consistió en la comparación de los niveles y de la frecuencia de aparición de los alergenios Der p 1 y Der f 1, así como del total del Grupo 1, entre las dos zonas estudiadas (costa e interior), así como entre pacientes alérgicos y no alérgicos.

#### **a. Diferencias entre costa e interior**

En la costa existen niveles significativamente mayores (Mann-Whitney) que en el interior, de Der p 1 ( $p < 0,0001$ ), Der f 1 ( $p = 0,0233$ ) y del total del Grupo 1 ( $p < 0,0001$ ).

También en la costa, el número de colchones con niveles de Der p 1 superiores a 2  $\mu\text{g/g}$  y 10  $\mu\text{g/g}$  es significativamente superior (Fisher) al del interior ( $p < 0,0001$ ). En el caso de Der f 1 esto sólo ocurre para los colchones con niveles superiores 10  $\mu\text{g/g}$  ( $p = 0,0474$ ). Para el total del Grupo 1, hay un mayor número de colchones de la costa, frente al interior, que tienen niveles superiores a 2  $\mu\text{g/g}$  ( $p = 0,0031$ ) y 10  $\mu\text{g/g}$  ( $p = 0,0008$ ).

#### **b. Diferencias entre alérgicos y no alérgicos**

No hay diferencias significativas entre alérgicos a los ácaros y no alérgicos en cuanto a niveles de alergenios, ni número de colchones con Der p 1, Der f 1 y total del Grupo 1.

#### **c. Diferencias entre alérgicos y no alérgicos de costa e interior**

Analizando las diferencias entre costa e interior según las muestras procedieran de pacientes alérgicos y no alérgicos (excluyendo las muestras de 2ª residencias), se ha observado niveles significativamente superiores (Mann-Whitney) de Der p 1 ( $p = 0,0070$ ) en los colchones de los pacientes alérgicos de la costa frente a los del interior. En el caso de los



no alérgicos, se observa este mismo hecho ( $p < 0,0001$ ), así como en el total del Grupo 1 ( $p = 0,009$ ).

#### **d. Correlación entre los niveles de Der p 1 y Der f 1**

Como en el caso de *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, se observa una relación significativa y negativa entre los valores de Der p 1 y Der f 1 (Spearman;  $p = 0,0114$ ).

#### **e. Correlación entre niveles de Der p 1 y *D. pteronyssinus* y entre niveles de Der f 1 y *D. farinae***

Como era de esperar, existe una correlación muy significativa entre los niveles de Der p 1 y las poblaciones de *D. pteronyssinus* (Spearman;  $p < 0,0001$ ) por un lado y Der f 1 con *D. farinae* ( $p < 0,0001$ ) por otro, No existe correlación entre *D. pteronyssinus* y Der f 1, ni entre *D. farinae* con Der p 1.

## **2. Especies de ácaros y niveles de Der p 1 y Der f 1 en colchones de pacientes con dos residencias (costa e interior)**

En Alicante, muchos individuos tienen dos viviendas, una en el interior y otra en la costa. Por lo tanto, muchas personas suelen residir en durante los meses laborales en la ciudad y los fines de semana y días de vacaciones se trasladan a la residencia costera. Muchos pacientes experimentan síntomas cuando se trasladan de una a otra vivienda. Por esa razón decidimos estudiar si existían diferencias en la exposición a niveles de alérgenos y de ácaros en un grupo de 13 individuos con residencia en costa e interior. Se recogieron muestras de polvo de ambos colchones. Cuatro de estos pacientes eran alérgicos a los ácaros y 9 no lo eran. En la tabla siguiente se muestran los valores medios de alérgenos y de los ácaros *Dermatophagoides* spp. en ambas residencias.

**Tabla XXVII.** Prevalencia de *Dermatophagoides* spp. en individuos con dos residencias, en costa (13) e interior (13)

	Costa			Interior		
	%*	MG	Rango	%	MG	Rango
<b>Der p 1</b>	61,5	2,9	9,0 - 0,6	38,5	1,3	2,1 - 0,6
<b>Der f 1</b>	100	16,8	143,7 - 1,16	53,8	5,2	14,6 - 1,3
<b>Total de Ácaros</b>	84,6	410,8	5,586 - 25	53,8	63,4	447 - 18
<b><i>D. pteronyssinus</i></b>	38,4	194,8	2,188 - 47	30,8	48,8	224 - 24
<b><i>D. farinae</i></b>	84,6	262,7	3,398 - 25	38,5	73,2	224 - 18

\* Detectable en % de muestras

Los pacientes presentaban niveles superiores de alérgenos en los colchones de la costa comparados con sus colchones de interior. En el estudio comparativo de las muestras se han determinado diferencias significativas de alérgenos para Der p 1 (Wilcoxon;  $p = 0,0283$ ), Der f 1 ( $p = 0,0058$ ), ácaros totales ( $p = 0,0121$ ) y *D. farinae* ( $p = 0,0096$ ). Para *D. pteronyssinus* no se observaron diferencias significativas.

Estos resultados indican que un paciente que reside en el interior, está expuesto a niveles más bajos de alérgenos de ácaros, se puede sensibilizar o experimentar síntomas alérgicos en su segunda residencia en la costa, donde encontramos niveles superiores de ácaros,

## D. Determinación de la IgE específica a los ácaros

Se determinó la IgE específica a 6 especies de ácaros en el suero de 72 pacientes alérgicos a, como mínimo, 1 especie de ácaro por prueba cutánea, En la siguiente tabla se muestran los resultados de estas determinaciones expresadas como resultado positivo (+) o negativo (-).

**Tabla XXVIII.** Sensibilización a las distintas especies de ácaros, *in vitro*

SUERO	IgE ESPECÍFICA					
	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>
1560	+	+	-	-	-	-
4650	+	+	-	-	-	-
11477	+	+	+	+	+	+
11646	+	+	+	-	+	-
13144	-	-	-	-	-	-
17061	-	-	-	-	-	-
18225	+	+	+	-	-	-
19826	+	-	-	-	-	-
27485	+	-	-	-	-	-
28353	+	+	+	-	-	-
37057	+	+	+	+	-	-
38519	+	-	+	-	-	-
41831	+	+	+	-	-	+
52123	+	+	+	-	-	-
60202	+	+	+	+	+	+
66081	+	+	+	-	-	+
67230	+	+	+	+	-	+
68497	+	+	+	+	+	+
68936	-	+	-	-	-	-
69719	+	+	+	+	+	+
72996	+	+	-	-	-	-
78666	-	-	-	-	-	-
85773	+	+	+	-	-	-
95807	+	+	+	-	-	-
95819	+	-	-	-	-	-
98174	+	+	+	-	-	-
98508	+	+	+	-	-	-
98675	+	+	+	-	-	-
98809	+	+	+	-	-	-
99094	+	+	+	-	-	-
99265	+	+	+	-	-	-
100750	-	+	-	+	-	-
100801	+	+	+	-	-	-
101041	+	+	-	-	-	+
101536	+	+	+	-	-	-
102106	+	+	+	-	-	-
103355	+	+	+	-	-	-

**Tabla XXVIII (continuación).** Sensibilización a las distintas especies de ácaros, *in vitro*

<b>SUERO</b>	<b><i>D. pteronyssinus</i></b>	<b><i>D. farinae</i></b>	<b><i>E. maynei</i></b>	<b><i>B. tropicalis</i></b>	<b><i>L. destructor</i></b>	<b><i>T. putrescentiae</i></b>
104298	+	+	+	+	+	+
105516	+	+	+	-	-	-
117456	-	+	+	-	-	-
121718	-	-	-	-	-	-
128116	+	-	+	-	-	-
128776	-	-	-	-	-	-
136499	-	-	-	+	-	+
144007	-	-	-	-	-	-
145412	+	+	-	-	-	-
145692	-	-	+	-	-	-
147817	-	-	-	-	-	-
147912	+	+	+	+	+	+
148335	-	-	-	-	-	-
149266	-	-	-	+	-	+
149454	-	-	-	-	-	-
149547	+	+	+	-	-	-
149584	+	+	+	-	+	-
149797	+	+	+	-	-	+
149894	+	+	-	-	-	-
150798	-	-	-	-	-	-
151248	-	-	-	-	-	-
153848	+	-	+	-	-	-
153938	+	+	+	-	-	-
840130	+	+	+	-	-	-
904432	+	+	+	+	+	+
A-1058	+	+	+	-	-	+
A-1293	+	+	+	-	-	-
A-1304	+	+	+	+	+	+
A-1312	+	+	+	-	-	-
A-1333	-	-	-	-	-	-
A-1422	+	+	+	+	+	+
A-1428	+	+	+	+	-	+
A-199	+	+	+	-	-	+
a-821	+	+	+	+	+	+
E-341	+	+	+	-	-	-

A continuación mostramos el porcentaje de sensibilizaciones a las distintas especies.

**Tabla XXIX.** Porcentajes de sensibilización a las distintas especies de ácaros, *in vitro*

	N = 72 (%)
<i>D. pteronyssinus</i>	75
<i>D. farinae</i>	71
<i>E. maynei</i>	65
<i>B. tropicalis</i>	22
<i>L. destructor</i>	17
<i>T. putrescentiae</i>	28

En la siguiente tabla mostramos los valores individuales de IgE específica.

**Tabla XXX.** Valores de IgE específica de los distintos sueros para las distintas especies de ácaros. Resultados expresados en densidades ópticas.

SUERO	IgE ESPECÍFICA					
	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>
1560	0,25	0,234	0,158	0,054	0,139	0,064
4650	0,267	0,316	0,176	0,172	0,029	0,11
11477	3,222	3,488	2,403	2,501	0,792	2,498
11646	2,955	1,93	2,169	0,183	0,441	0,167
13144	0,089	0,090	0,000	0,000	0,023	0,000
17061	0,157	0,084	0,156	0,076	0,113	0,078
18225	0,226	0,201	0,306	0,063	0,111	0,058
19826	0,312	0,138	0,188	0,000	0,000	0,023
27485	0,212	0,102	0,189	0,068	0,077	0,06
28353	1,118	2,810	0,911	0,000	0,019	0,014
37057	2,867	3,116	2,323	2,006	0,014	0,028
38519	0,732	0,158	0,596	0,158	0,171	0,198
41831	3,001	3,512	1,373	0,011	0,057	0,320
52123	0,401	0,388	0,394	0,089	0,1	0,074
60202	2,514	3,234	2,111	0,965	1,111	1,556
66081	2,949	3,417	2,482	0,033	0,037	0,255
67230	2,049	1,277	0,761	0,225	0,145	0,308
68497	3,547	3,777	3,129	2,448	3,149	1,732
68936	0,095	0,264	0,134	0,000	0,023	0,057
69719	2,998	3,195	2,355	2,988	0,440	1,958
72996	0,574	0,256	0,191	0,132	0,075	0,104
78666	0,056	0,101	0,072	0,069	0,058	0,075
85773	0,238	0,247	0,246	0,077	0,047	0,075
95807	0,444	0,328	0,292	0,09	0,058	0,068
95819	0,234	0,119	0,105	0,077	0,045	0,063
98174	0,658	2,767	0,604	0,000	0,102	0,000
98508	1,419	2,810	1,072	0,023	0,013	0,007
98675	2,882	3,129	1,983	0,000	0,022	0,030
98809	1,170	1,024	0,455	0,000	0,013	0,026

**Tabla XXX. (Continuación)** Valores de IgE específica de los distintos sueros para las distintas especies de ácaros. Resultados expresados en densidades ópticas

<b>SUERO</b>	<b><i>D. pteronyssinus</i></b>	<b><i>D. farinae</i></b>	<b><i>E. maynei</i></b>	<b><i>B. tropicalis</i></b>	<b><i>L. destructor</i></b>	<b><i>T. putrescentiae</i></b>
99094	1,939	2,513	1,492	0,049	0,039	0,137
99265	0,435	0,231	0,317	0,063	0,029	0,038
100750	0,029	0,201	0,091	0,202	0,013	0,000
100801	0,701	0,453	0,358	0,068	0,051	0,079
101041	0,303	3,049	0,043	0,000	0,015	0,282
101536	2,610	3,011	0,721	0,143	0,031	0,007
102106	2,615	3,016	2,930	0,000	0,054	0,175
103355	2,436	2,754	1,317	0,152	0,039	0,100
104298	3,129	3,253	2,686	2,877	2,689	2,887
105516	0,902	0,547	0,338	0,056	0,063	0,068
117456	0,094	0,571	0,318	0,08	0,081	0,091
121718	0,067	0,117	0,075	0,051	0,039	0,058
128116	0,417	0,744	0,267	0,079	0,054	0,058
128776	0,161	0,173	0,19	0,102	0,055	0,079
136499	0,057	0,08	0,045	0,323	0,019	0,486
144007	0,088	0,117	0,074	0,081	0,037	0,072
145412	0,435	0,439	0,183	0,138	0,074	0,137
145692	0,069	0,196	0,317	0,158	0,045	0,18
147817	0,116	0,142	0,085	0,1	0,021	0,062
147912	3,42	2,895	2,415	0,3	0,264	0,376
148335	0,188	0,157	0,086	0,097	0,028	0,064
149266	0,038	0,102	0,047	0,326	0,005	0,621
149454	0,049	0,12	0,022	0,102	0,012	0,051
149547	0,562	0,215	0,269	0,122	0,039	0,057
149584	0,407	0,452	0,217	0,094	0,244	0,074
149797	0,943	1,615	0,257	0,174	0,044	0,237
149894	0,261	0,214	0,143	0,084	0,087	0,075
150798	0,116	0,104	0,068	0,113	0,047	0,082
151248	0,077	0,124	0,164	0,141	0,032	0,074
153848	0,872	0,81	0,302	0,138	0,026	0,081
153938	2,545	1,317	0,887	0,144	0,068	0,126
840130	1,833	0,559	0,334	0,14	0,066	0,105
904432	3,025	3,244	2,332	0,464	0,236	0,575
A-1058	2,081	2,884	0,354	0,000	0,035	0,584
A-1293	0,341	2,990	0,436	0,000	0,031	0,159
A-1304	2,760	3,167	2,401	0,505	1,191	0,642
A-1312	1,933	2,778	0,613	0,070	0,142	0,196
A-1333	0,012	0,016	0,000	0,000	0,000	0,012
A-1422	3,325	3,399	2,568	2,449	3,200	2,882
A-1428	0,862	3,145	0,601	0,792	0,084	0,365
A-199	2,676	2,665	2,608	0,000	0,026	0,334
a-821	3,222	3,587	2,777	2,344	2,075	2,463
E-341	2,884	2,705	2,285	0,000	0,017	0,043

La tabla de resultados muestra como los niveles de IgE específica más altos se encuentran para los extractos de *D. pteronyssinus*, *D. farinae* y *E. maynei*. En contraposición, los valores más bajos detectados corresponden a los ácaros que se encontraron en menos proporción en las muestras de polvo.

Se realizó un estudio estadístico donde se compararon los valores de la IgE específica entre las distintas especies. Los resultados se muestran a continuación.

**Tabla XXXI.** Comparación por test de Bonferoni de los valores de IgE directa entre los diferentes ácaros del polvo; NS: no significativo; p = valor de significado estadístico

	<i>D. farinae</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>
<i>D. pteronyssinus</i>	NS	NS	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001
<i>D. farinae</i>		P = 0,0004	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001
<i>E. maynei</i>			P<0,0026	P<0,0003	P<0,0022
<i>B. tropicalis</i>				NS	NS
<i>L. destructor</i>					NS

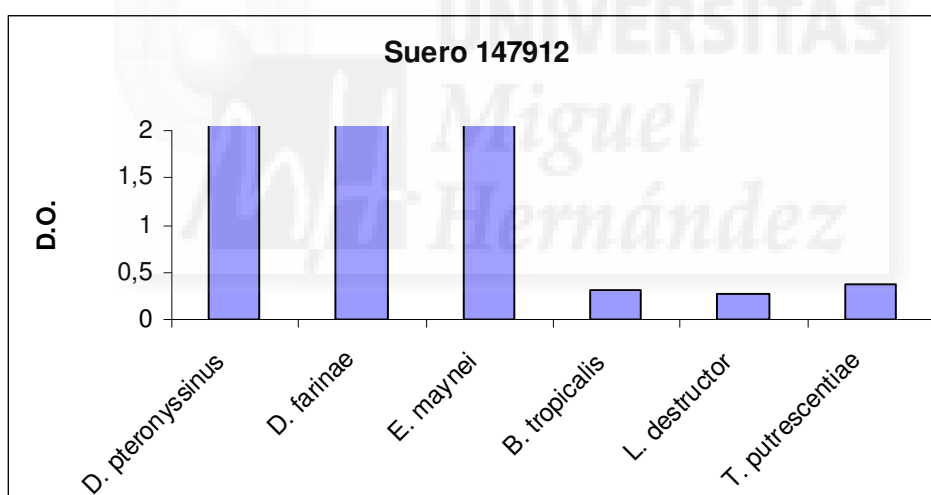
Los coeficientes de correlación obtenidos tras analizar las densidades ópticas obtenidas con cada uno de los ácaros se muestran a continuación.

**Tabla XXXII.** Coeficientes de correlación lineal entre las densidades ópticas de las determinaciones de IgE a las diferentes especies de ácaros

	<i>D. farinae</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>
<i>D. pteronyssinus</i>	r = 0,85	r = 0,92	r = 0,55	r = 0,52	r = 0,56
<i>D. farinae</i>		r = 0,82	r = 0,50	r = 0,45	r = 0,52
<i>E. maynei</i>			r = 0,62	r = 0,6	r = 0,62
<i>B. tropicalis</i>				r = 0,78	r = 0,9
<i>L. destructor</i>					r = 0,86

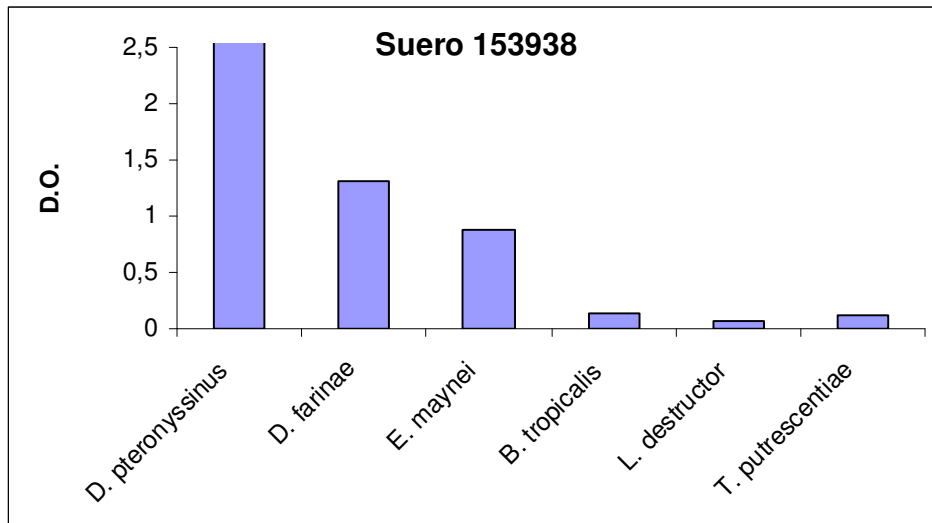
Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas entre *D. pteronyssinus* y los ácaros con una menor representación en las muestras como son *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*. Por otro lado, los ácaros a los que los niveles de IgE son más bajos, no muestran diferencias significativas entre ellos debido a que la mayoría de los casos son negativos. Se establecen, por lo tanto, 2 grupos de ácaros que son por un lado *D. pteronyssinus*, *D. farinae* y *E. maynei*, y por otro lado, el resto de ácaros.

A continuación se muestran una serie de patrones característicos. En la figura 28 se muestra un paciente que tiene IgE específica a todos los ácaros estudiados *in vitro*. En la figura 29 se encuentra un patrón con positividad para la familia Pyroglyphidae. En las figuras 30 y 31 una combinación de sensibilizaciones para diferentes familias.

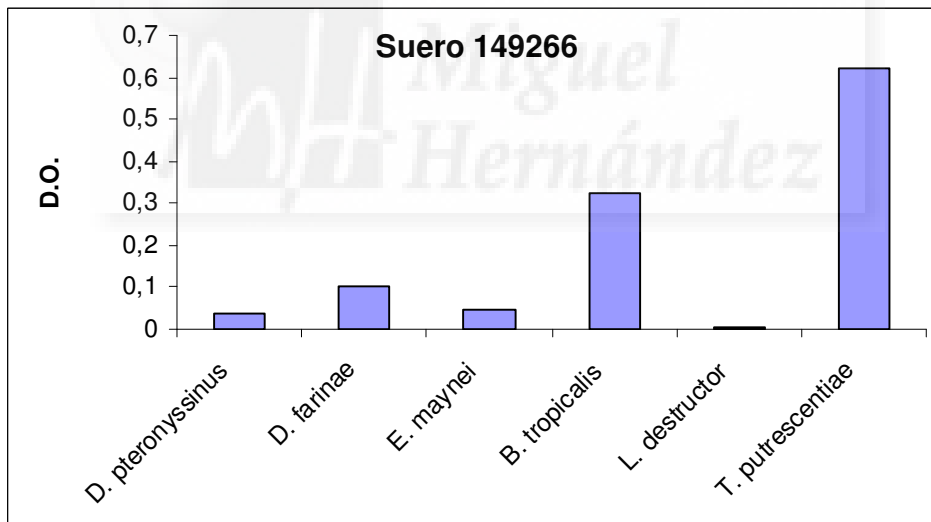


**Figura 28**, Paciente con determinación de IgE específica positivas para todos los ácaros determinados *in vitro*.

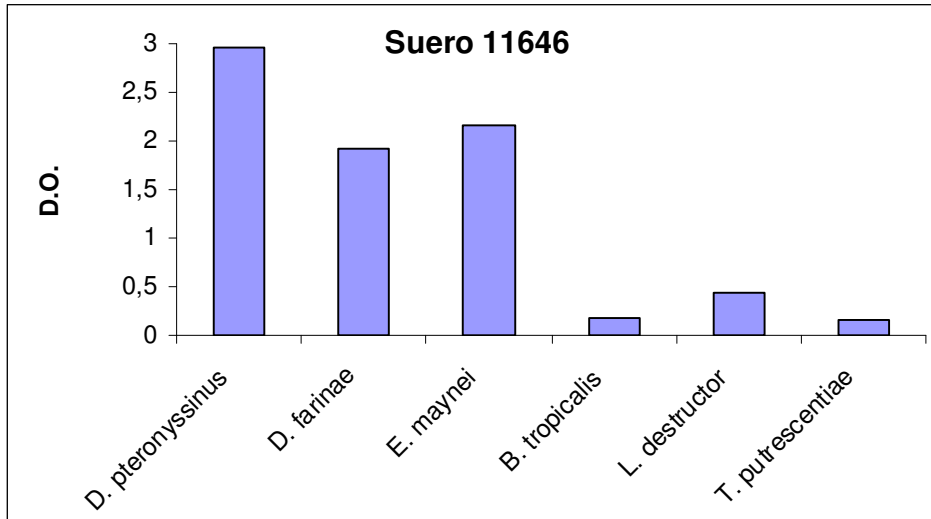




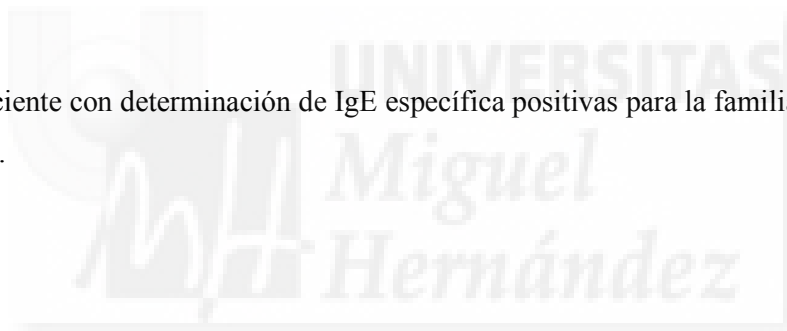
**Figura 29,** Paciente con determinación de IgE específica positivas para la familia Pyroglyphidae



**Figura 30.** Paciente con determinación de IgE específica positivas para la *B. tropicalis* y *T. putrescentiae*

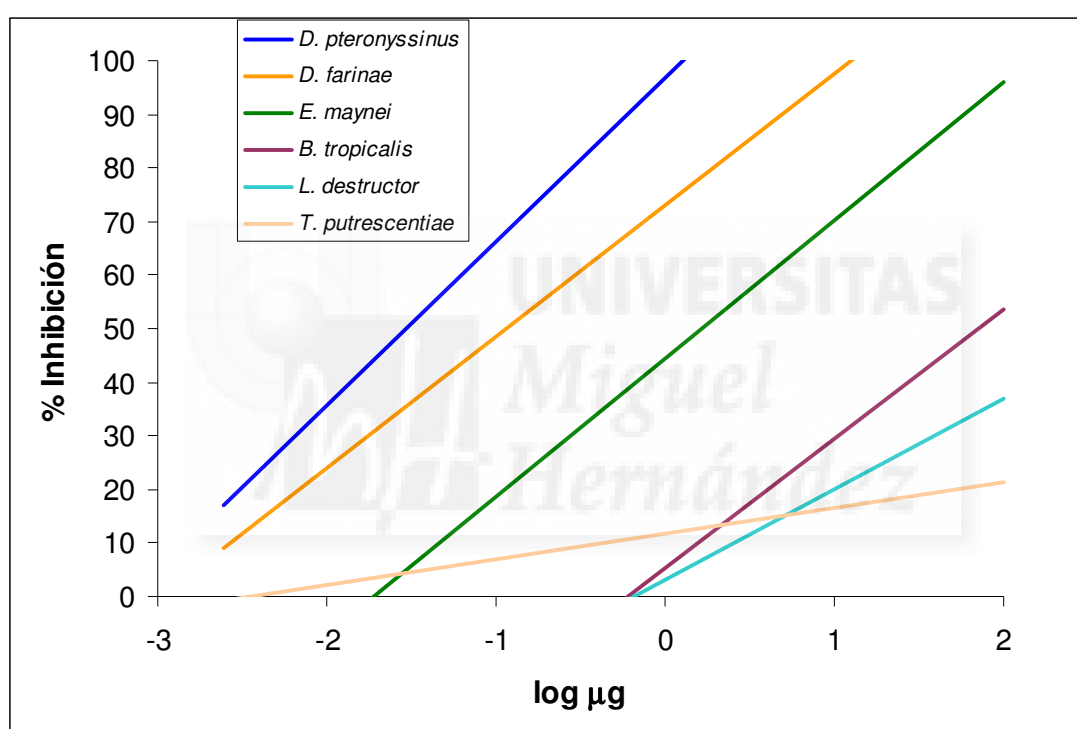


**Figura 31.** Paciente con determinación de IgE específica positivas para la familia Pyroglyphidae y *L. destructor*.



## D. Estudio de la reactividad cruzada entre los ácaros

En la siguiente figura se observa la inhibición de los ácaros analizados como inhibidores en fase líquida, frente a *D. pteronyssinus* en fase sólida. Se observa la gran reactividad cruzada de la familia Pyroglyphidae, que muestran líneas paralelas, y posteriormente con menor reactividad cruzada, se encuentran *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*. En este tipo de experimentos, cuanto menos sea capaz de inhibir un ácaro, o más cantidad de alérgeno se necesite, menos reactividad cruzada existe entre las especies.



**Figura 32.** Estudio de ELISA inhibición de los ácaros más comúnmente encontrados frente a *D. pteronyssinus*

Estos resultados quedan igualmente reflejados en los valores de 50% de inhibición (cantidad de liofilizado necesaria para producir 50% de inhibición), representados en la tabla XXX.

**Tabla XXXIII.** Coeficiente de regresión en relación con la cantidad de alergeno necesaria para inhibir el 50%.

	<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	<i>E. maynei</i>	<i>B. tropicalis</i>	<i>L. destructor</i>	<i>T. putrescentiae</i>
<b>R</b>	0,98	0,99	0,99	0,98	0,75	0,66
<b>50% Inh (µg)</b>	0,03	0,115	1,628	70,43	>100	>100

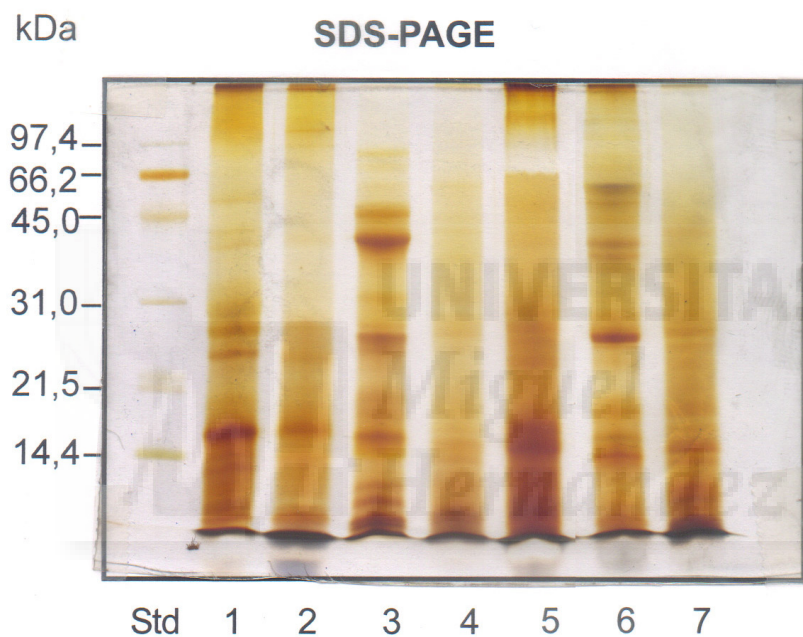
Los valores de R indican los coeficientes de correlación lineal entre los puntos de la misma recta, pero no son indicador de la reactividad cruzada. Las cantidades necesarias para producir el 50% de inhibición, si nos dan una idea de reactividad cruzada, ya que cuanto menos liofilizado se necesita para producir este valor, mayor reactividad cruzada existe entre los ácaros analizados.



## F. Caracterización de los extractos de ácaros usados en este estudio

### 1. Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

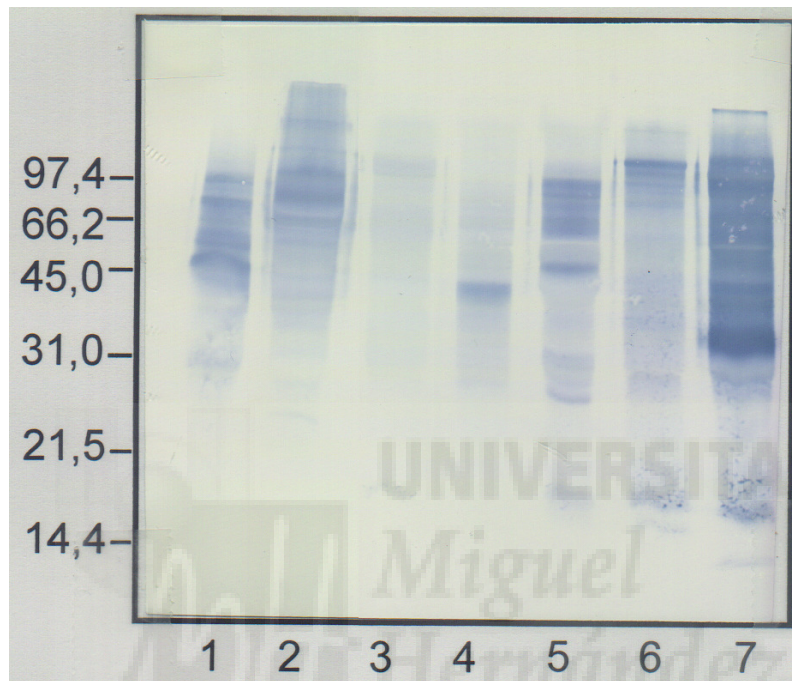
Se muestra el SDS-PAGE teñido con nitrato de plata con las bandas proteicas de los principales ácaros recogidos en las muestras de polvo de la provincia de Alicante. Se observan algunas bandas comunes entre los extractos analizados, pero en algunos casos también se divisan bandas específicas de cada especie.



**Figura 33.** SDS-PAGE de los principales ácaros encontrados en las muestras de polvo. Calle 1: *D. pteronyssinus*; calle 2: *D. farinae*; calle 3: *E. maynei*; calle 4: *B. tropicalis*; calle 5: *L. destructor*; calle 6: *C. arcuatus*; calle 7: *T. putrescentiae*

## 2. Inmunoblot

Se muestra en el inmunoblot de las especies de ácaros que se han recogido con mayor frecuencia en las muestras de polvo de los colchones en la provincia de Alicante.



**Figura 34.** Inmunoblot de los principales ácaros de las muestras de polvo recogidas en Alicante. La distribución de los ácaros en el Inmunoblot es la siguiente: Calle 1: *T. putrescentiae*; calle 2: *C. arcuatus*; calle 3: *L. destructor*; calle 4: *B. tropicalis*; calle 5: *E. maynei*; calle 6: *D. farinae*; calle 7: *D. pteronyssinus*.

Usando el pool de sueros de los nueve individuos se observa unión de IgE específica a todas las especies analizadas, lo que demuestra la presencia de IgE específica para todas las especies analizadas en este pool.

Igualmente se observa unión de IgE a bandas de distinto peso molecular en los extractos lo que confirma los resultados obtenidos en las inhibiciones de IgE, La unión de IgE específica a *D. pteronyssinus* parece ser la mas intensa, lo cual estaría con los valores de IgE específica obtenidos.

## G. Provocaciones nasales y bronquiales con ácaros en pacientes alérgicos.

### 1. Provocaciones nasales

Las tablas XXXI y XXXII describen el resultado de las 42 provocaciones nasales realizadas con los ácaros del polvo *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *L. destructor* y *T. putrescentiae* en 24 pacientes sensibilizados a *Dermatophagoides* spp.

**Tabla XXXIV.** Resultados de las provocaciones nasales, prueba cutánea e IgE específica

Alergenos	Provocación nasal	N	Prick (mm) mediana	IgE-CAP (kU/l) mediana
Todas las especies	Positivo	30	10	24,6
	Negativo	12	6	2,0
<i>Dermatophagoides</i> spp	Positivo	21	10	34,2
	Negativo	7	7	14,3
<i>D. pteronyssinus</i>	Positivo	13	11	39,1
	Negativo	4	9	10,3
<i>D. farinae</i>	Positivo	8	10	28,8
	Negativo	3	6	16,1
<i>L. destructor</i>	Positivo	6	13,5	3,1
	Negativo	4	4	0,5
<i>T. putrescentiae</i>	Positivo	3	5,5	1,0
	Negativo	1	0	0

**Tabla XXXV.** Concentraciones de alergenos de ácaros del polvo que presentaron provocación nasal positiva.

Alergenos	Concentración de alergeno	n	Prick (mm) mediana	IgE-CAP (kU/l) mediana
<i>D. pteronyssinus</i>	1 HEP	2	11	68,5
	10 HEP	7	10	31,4
	100 HEP	4	11,5	43,3
<i>D. farinae</i>	10 HEP	4	10	20,3
	50 HEP	1	12	100
	100 HEP	3	10	29,3
<i>L. destructor</i>	1 HEP	2	11	13,8
	10 HEP	2	16,5	2,6
	100 HEP	2	9	0
<i>T. putrescentiae</i>	100 HEP	3	5,5	1

Se muestran a continuación los resultados de la provocaciones nasales realizadas con *D. pteronyssinus* y *D. farinae* en pacientes con sensibilización para *Dermatophagoides* spp. También se adjuntan los resultados de las pruebas cutáneas y los valores de IgE específica para *Dermatophagoides* de estos pacientes.

**Tabla XXXVI.** Provocaciones nasales con *D. pteronyssinus* y *D. farinae* en relación con los valores de IgE *in vivo* e *in vitro* (D pte: *D. pteronyssinus*; D far: *D. farinae*)

Paciente	Alergeno	Dosis alergen	Incremento resistencia nasal %	Provocacion nasal	Prick (mm) D pte	Prick (mm) D far	IgE (kU/l) D pte	IgE (kU/l) D far
145412	D pte	100 HEP	148	Negativa	7	8	6,4	6,7
149547	D pte	10 HEP	176	Positiva	5	6	41	13
150798	D pte	10 HEP	400	Positiva	7	7	18	16
	D far	100 HEP	100	Negativa				
128776	D pte	10 HEP	400	Positiva	11	5	14	25
	D far	100 HEP	100	Negativa				
129336	D pte	100 HEP	176	Negativa	11	9	14	13
	D far	10 HEP	202	Positiva				
955919	D pte	10 HEP	570	Positiva	10	14	27	9
	D far	10 HEP	475	Positiva				
153938	D pte	10 HEP	525	Positiva	15	10	>100	>100
	D far	10 HEP	600	Positiva				
153847	D pte	100 HEP	552	Positiva	18	10	68	45
	D far	100 HEP	392	Positiva				
153848	D pte	100 HEP	170	Negativa	11	9	37	26
	D far	100 HEP	275	Positiva				
11646	D pte	100 HEP	345	Positiva	8	10	43	28
	D far	10 HEP	250	Positiva				



En la tabla siguiente se muestran los resultados de las provocaciones nasales con el ácaro de depósito *L. destructor* y *Dermatophagoides* spp. Nueve pacientes estaban sensibilizados al ácaro *L. destructor* y un paciente no, que fue utilizado como control. Todos los pacientes se encontraban sensibilizados a *Dermatophagoides*.

**Tabla XXXVII.** Provocaciones nasales con *L. destructor* frente a *Dermatophagoides* spp. en relación con los valores de IgE *in vivo* e *in vitro* (L des: *L.destructor*; D pte: *D. pteronyssinus*; D far: *D. farinae*)

Paciente	Alergeno	Dosis Alergeno	Incremento resistencia nasal %	Provocacion nasal	Prick (mm) L des	Prick (mm) D pte	Prick (mm) D far	IgE (kU/l) L des	IgE (kU/l) D pte	IgE (kU/l) D far
38519	L des	20 HEP	237	Positiva	16	7	5	2,1	NR	NR
147817	L des	20 HEP	204	Positiva	17	23	8	3	NR	NR
148335	L des	100 HEP	100	Negativa	0	9	8	0	17	15
150121	L des	100 HEP	285	Positiva	11	8	7	NR	NR	NR
128116	L des	100 HEP	220	Positiva	8	13	16	0	31	31
	D pte	10 HEP	201	Positiva						
78666	L des	100 HEP	0	Negativa	6	3	4	0	0	0
	D pte	100 HEP	100	Negativa						
100801	L des	100 HEP	120	Negativa	4	8	7	0,5	>100	63
	D pte	1 HEP	518	Positiva						
121718	L des	100 HEP	100	Negativa	4	12	6	NR	NR	NR
	D pter	100 HEP	224	Positiva						
147912	L des	2 HEP	420	Positiva	5	12	12	5,5	>100	>100
	D far	50 HEP	250	Positiva						
149584	L des	1 HEP	202	Positiva	17	7	3	22	>100	60
	D pte	10 HEP	386	Positiva						

En la siguiente tabla se muestran los resultados de la provocaciones con el ácaro de depósito *T. putrescentiae* y con *Dermatophagoides* spp. Tres pacientes estaban sensibilizados a *T. putrescentiae* y el paciente con sensibilización negativa para *s T. putrescentiae* e utilizó como control.

**Tabla XXXVIII.** Provocaciones nasales con *T. putrescentiae* frente a *Dermatophagoides* spp en relación con los valores de IgE *in vivo* e *in vitro*. (T put: *T. putrescentiae*; D pte: *D. pteronyssinus*; D far: *D. farinae*)

Paciente	Alergeno	Dosis alergenico	Incremento resistencia nasal %	Provocacion nasal	Prick (mm) T put	Prick (mm) D pte	Prick (mm) D far	IgE (kU/l) T put	IgE (kU/l) D pte	IgE (kU/l) D far
18225	T put	100 HEP	100	Negativo	0	11	10	0	5,8	5,7
	D pte	100 HEP	191	Positivo						
105516	T put	100 HEP	321	Positivo	6	14	11	1,9	37	23
	D pte	1 HEP	220	Positivo						
149849	T puy	100 HEP	200	Positivo	5	10	6	1,0	4	3,6
	D far	100 HEP	100	Negativo						
151248	T put	100 HEP	400	Positivo	5	10	10	0,5	3,3	1,9
	D far	100 HEP	516	Positivo						

## 2. Provocaciones bronquiales

Se muestran los resultados de las provocaciones bronquiales específicas con *D. pteronyssinus* en pacientes con asma bronquial con sensibilización a *Dermatophagoides* spp. sin haber recibido inmunoterapia previa. Los resultados se muestran en PC<sub>20</sub>, que equivale a la concentración de alérgeno *D. pteronyssinus* en HEP que produce un descenso del FEV<sub>1</sub> en un 20%.

**Tabla XXXIX.** Provocaciones bronquiales con *D. pteronyssinus* en pacientes sensibilizados a *D. pteronyssinus* y *D. farinae*

Paciente	Sexo	Edad	PC <sub>20</sub> (HEP)
LAM	M	28	0,9
SAS	M	32	0,6
CAC	M	33	0,5
RAN	H	54	0,8
JBM	H	42	0,7
CCV	M	27	0,9
ECM	H	33	0,07
ACR	M	19	0,6
RCB	H	24	0,6
DGE	M	36	0,9
MFP	M	32	7
EFG	M	36	15,6
JFF	H	34	10
JGM	H	29	6,3
ZGG	M	19	0,5
IGA	H	25	4,5
JGL	M	27	6,8
MGZ	M	33	14,5
DIB	H	22	0,5
GLM	H	35	0,3
SMM	M	24	0,9
RMF	H	27	1
MMG	H	32	3,2
FPT	H	42	0,6
DPI	M	41	7,4
DPF	H	38	0,2
ASL	M	27	0,5
JSC	H	28	11,1
MTF	F	34	5
FVC	H	29	1

DISCUSIÓN



En el presente estudio se describe un alto porcentaje de sensibilización a distintas especies de ácaros en pacientes que acuden a la consulta de alergia en Alicante con sospecha de padecer patología alérgica respiratoria. Hemos establecido que en este grupo de población existía un porcentaje de sensibilización al 55,5%, como mínimo, a una especie de ácaros. En el caso de los pacientes que si se confirmó una patología alérgica, estos porcentajes se incrementaron significativamente. Por ejemplo, los extractos de *D. pteronyssinus* producen una prueba cutánea positiva en el 97,8% de los pacientes con rinoconjuntivitis y/o asma alérgica, y sensibilizados a los ácaros. Esta especie es la que presenta un mayor porcentaje de sensibilización en nuestros pacientes, seguida por *D. farinae*.

Hasta hace pocos años, se consideraba que solamente las especies del género *Dermatophagoides* tenían importancia en la alergia respiratoria. Sin embargo, primero, en estudios en granjeros<sup>111</sup> y panaderos<sup>112,113</sup> y, con posterioridad, en estudios realizados en Europa<sup>114</sup>, zonas tropicales<sup>115</sup> y subtropicales<sup>116</sup>, se ha demostrado otras especies de ácaros diferentes a los *Dermatophagoides* son también importantes en las alergias respiratorias por su poder sensibilizante e inductor de síntomas<sup>117</sup>. En países, como Alemania<sup>118</sup>, Suecia<sup>119,120</sup> y Finlandia<sup>121</sup> igualmente se ha demostrado sensibilidad a otras especies de ácaros en poblaciones rurales y urbanas. A nivel internacional destacan los estudios realizados con *L destructor*<sup>122,123</sup>, *T. putrescentiae*<sup>124</sup>, *B. tropicalis*<sup>125, 126</sup>, *A. siro*<sup>127,128,129</sup>. La sensibilización a distintas especies de ácaros en pacientes alérgicos ha sido descrita en otros estudios, oscilando la prevalencia entre aproximadamente un 40 y un 90%<sup>130</sup>.

En general, en pacientes alérgicos con rinoconjuntivitis y/o asma, la tasa de sensibilización a ácaros suele oscilar entre un 40 y un 90% según la zona geográfica y la edad de los pacientes. En este estudio, el 100 % de los pacientes con asma tenían al menos una prueba cutánea positiva a una de las especies de ácaros. Este alto número se debe principalmente a los criterios de inclusión de pacientes en el estudio para su participación posterior en la recolección de muestras de polvo. Sería por lo tanto necesario realizar un estudio epidemiológico para establecer la prevalencia real de alergia a los ácaros en los pacientes asmáticos de Alicante.

Un factor importante a considerar en este estudio es la calidad de los extractos estandarizados utilizados en el mismo. Muchos de los estudios publicados hace años, no utilizaron extractos estandarizados que contenían una concentración óptima y definida de

proteínas y alérgenos. Por lo tanto, al no haber estado estandarizado en unidades biológicas, se hace más difícil la comparación y la reproductibilidad de estos estudios. En nuestro trabajo utilizamos extractos estandarizados y valorados en unidades biológicas, lo cual permite a otros investigadores comparar nuestros resultados de una forma objetiva.

En España se han realizado estudios de prevalencia de pruebas cutáneas para ácaros en niños y adultos en varias regiones<sup>131,132</sup>. Sin embargo, en toda la Comunidad Valenciana, y específicamente en la provincia de Alicante, no existían estudios de esa naturaleza, exceptuando los disponibles en las distintas unidades y servicios de alergia. Según nuestra información, y después de realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva, este trabajo sería el primero que estudia la prevalencia a diversas especies de ácaros en un número importante de pacientes en la zona de Alicante. Sobre el total de pacientes con sensibilización cutánea y respiratoria a ácaros estudiados, encontramos que la sensibilización media a ácaros es de  $4,5 \pm 1,4$  especies (media geométrica) por paciente.

Además de estudiar la prevalencia de prueba cutánea positivas a *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, ácaros considerados de mayor importancia, incluimos en nuestro trabajo otras especies como *D. microceras*, *T. putrescentiae*, *L. destructor*, *B. tropicalis* y *E. maynei*, que amplían nuestro conocimiento sobre la alergenidad de estas especies en nuestra región.

El ácaro *D. microceras*, que aunque no se encontró en las muestras de polvo, indujo un gran número de pruebas cutáneas positivas, debido principalmente a los alérgenos comunes que tiene con las otras dos especies de *Dermatophagoides* usadas en el estudio, y que sí fueron encontradas abundantemente en las muestras de polvo.

Se ha estudiado por primera vez en España la prevalencia de pruebas cutáneas a *E. maynei*, que pertenece a la familia de los Pyroglyphidae y que está relacionada filogenéticamente con los *Dermatophagoides*. Se ha descrito que este ácaro tiene antígenos comunes, pero también específicos de especie<sup>133,134</sup>. Este ácaro también tiene una cierta reactividad cruzada con *B. tropicalis*, aunque en menor grado que con otras especies<sup>135</sup>. Este ácaro puede tener una importancia local, en zonas donde se encuentra en cantidades abundantes. Hemos observado el desarrollo de reacciones cutáneas muy intensas en determinados pacientes de nuestra zona cuando se les realiza una prueba cutánea con extractos de esta especie. En un futuro próximo pretendemos realizar un estudio en profundidad sobre la alergenidad de este ácaro en nuestra zona para valorar la implicación

clínica y su reactividad cruzada *in vivo*; ya que *in vitro* observamos que presenta una reactividad cruzada parcial con el resto de las especies.

A partir del alto porcentaje de sensibilización a *E maynei*, se observa un descenso importante de sensibilización a otras especies. Obtuvimos una frecuencia de sensibilización del 37% a *L. destructor*, con un porcentaje mayor en los pacientes que residen en la costa (45,6%) que en el interior (13%). Es importante señalar que este ácaro precisa una humedad relativa superior para su supervivencia, lo cual podría explicar el hallazgo de una mayor sensibilidad en pacientes residentes en la costa. En general, se observaron diferencias significativas entre la prevalencia de sensibilización a los ácaros Glycyphagidae entre costa e interior (Fisher  $p = 0,0028$ ), siendo ésta superior en la costa.

El siguiente ácaro observado con menor frecuencia fue el *T. putrescentiae*, con una prevalencia de positividad del 35,2%, con predominio también en pacientes residentes en la costa, aunque esta diferencia no fue significativa. Otro ácaro estudiado fue *B tropicalis*, que presentó una prevalencia del 11% en prueba cutánea. Este ácaro tiene actualmente una gran importancia en zonas tropicales y subtropicales ya que puede inducir sensibilizaciones en porcentajes superiores al 90%<sup>136</sup>. Los resultados obtenidos en nuestro estudio confirman que *B. tropicalis* presenta un bajo nivel de reactividad cruzada con los *D. pteronyssinus*, ya que en caso contrario la prevalencia de sensibilizaciones a *B tropicalis* hubiese sido mucho más alta. En los últimos años muchos alérgenos de este ácaro han sido secuenciados y clonados. En zonas tropicales, se considera que *B. tropicalis* es un ácaro con importancia alergológica similar, o superior a *D. pteronyssinus*<sup>137</sup>. El hecho de haber incluido extractos de esta especie en nuestro estudio es importante; con su inclusión se han obtenido datos de que *B. tropicalis* no es un ácaro con gran importancia alergológica en Alicante, como ocurre en otros países. Estos datos pueden servir de referencia para determinar su importancia relativa en zonas similares a la nuestra y comparar resultados obtenidos en zonas endémicas tropicales.

Otro componente importante de este estudio fue establecer la fauna acarológica presente en un número importante de colchones de pacientes alérgicos y controles. El objetivo de este apartado era estudiar las especies de ácaros presentes en nuestra zona para usar extractos de las especies de ácaros identificados en nuestra batería de diagnóstico,

valorar su implicación clínica y con ello, realizar un diagnóstico más específico y un tratamiento más eficaz de los pacientes sensibilizados a los ácaros en nuestra región.

En España, existen pocos datos sobre las especies presentes en polvo de casa. En Alicante no se había realizado previamente un estudio de esta naturaleza. Existen datos de Madrid<sup>138</sup>, Tenerife<sup>139</sup>, Galicia<sup>140</sup>, Huelva<sup>141</sup>, Salamanca y Zamora<sup>142</sup>, Andalucía<sup>143</sup> y Cataluña<sup>144</sup>. Estos estudios demostraron la existencia de numerosas especies, muchas de ellas con importancia alergológica. Nuestros datos confirman la importancia de *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, especies que están presentes en el 54% (MG: 115,9 ácaros/g) y 51% (MG: 113,7 ácaros/g) de las muestras, respectivamente. Estos niveles pueden presentar un factor importante de sensibilización y de desarrollo del asma en personas predispuestas genéticamente. Cuando analizamos estos valores por zonas geográficas, observamos que la cantidad de ácaros es mayor en la costa por las condiciones de mayor humedad ambiental. En la costa *D. pteronyssinus* estuvo presente en el 72,9%, con una MG de 205,7 ácaros/g y *D. farinae* en el 57,6%, MG de 216,7 ácaros/g. En el interior, *D. pteronyssinus* estuvo presente en el 40% de las muestras, con una MG de 50,9 ácaros/g y *D. farinae* en el 46,7% con una MG de 83,7 ácaros/g. Se observa por lo tanto un predominio de *D. pteronyssinus* en costa y de *D. farinae* en el interior.

Llama la atención el pequeño porcentaje que encontramos del resto de las especies de ácaros, aunque, en algunos casos, la prevalencia aumenta en las muestras de polvo de costa, exceptuando a *E. maynei* que parece ser más importante en las muestras del interior. Sin embargo, y a pesar de encontrarse en baja frecuencia, muchas de estas especies cuando están presentes pueden alcanzar cantidades importantes y frecuentemente próximas a los 100 ácaros/g.

Otros ácaros presentes en las muestras de polvo, pertenecen a la familia de los *Cheyletus*, concretamente *C. eruditus* y *C. tenuipilis*. Estos ácaros fueron agrupados bajo el mismo género en los recuentos y fueron identificados con una frecuencia del 6,7%, con un predominio en costa sobre interior. Recientemente se ha sugerido la alergenicidad del *C. eruditus* en zonas donde este ácaro es abundante<sup>145</sup>. Por lo tanto, no podemos descartar que en Alicante existan pacientes sensibilizados a esta especie sobre todo, si habitan en zonas donde este ácaro es abundante. Estas especies de ácaros predadores se encuentran siempre asociadas a colonias importantes de *Dermatophagoides* y de otras especies, ya que estos



ácaros son la base principal de su alimentación. Por lo tanto, es muy difícil la obtención de cultivos puros de *Cheyletus*, para la preparación de extractos para diagnóstico, lo cual dificulta establecer la prevalencia real de sensibilización a esta especie. Otras patologías, como la urticaria papular, han sido asociadas a especies del género *Cheyletus*, como el *Cheyletus malaccensis*<sup>34</sup>.

El ácaro *T. putrescentiae* se encontró en el 3,7% de las muestras, con predominio en la zona de interior, principalmente en muestras de polvo recogidas en casas de planta baja, con problemas de humedad, *T. putrescentiae* ha sido descrito en varias provincias españolas y es muy abundante en Andalucía, sobre todo en muestras de polvo recogidas en cocinas y despensas<sup>143</sup>.

El ácaro *G. domesticus* se encuentra en el 3% de las muestras de polvo y predominantemente en la costa. La alergenicidad de este ácaro ha sido descrita por varios autores<sup>146</sup>, y la presencia de este ácaro también ha sido demostrada en España en los estudios que se han realizado sobre fauna acarológica. De hecho, esta especie es de las más comunes en polvo de casa en Europa donde fue descrita hace ya varios siglos.

El ácaro *Histiostoma feroniarum* fue encontrado exclusivamente en la zona costera. Desconocemos la importancia alergológica de este ácaro y si está, o no implicado, en procesos de sensibilización en pacientes residentes en esta zona. En la actualidad no existe extractos comerciales de esta especie, lo que dificulta completamente el estudio de su alergenicidad. Esto nos ha estimulado a conseguir ejemplares vivos de esta especie para la realización de extractos diagnósticos y estudiar la sensibilización a esta especie y su posible reactividad cruzada con otras especies de ácaros.

Otra especie que pudiera ser importante desde el punto de vista alergológica es el ácaro *Cosmochthonius simplex*, presente en el 6,7% de las muestras. Esta especie alcanzó en una muestra el valor de 1.954 ácaros/g, que puede ser considerada como muy elevada. Actualmente no existen datos en la literatura sobre la alergenicidad de esta especie.

El *Tarsonemus* spp. ha sido descrito frecuentemente en muestras del polvo en varios países del mundo<sup>147</sup>, pero, igual que ocurre con otras especies, no existen extractos comerciales para establecer su importancia alérgica.

Hemos realizado un estudio estadístico de los resultados de la fauna acarológica de Alicante. Al comparar la abundancia de ácaros de ambas zonas, costa e interior, encontramos diferencias estadísticas significativas (Mann-Whitney) en el número total de ácaros ( $p < 0,0001$ ), *D. pteronyssinus* ( $p < 0,0001$ ) y *D. farinae* ( $p = 0,0278$ ), siendo los niveles superiores en las muestras recolectadas en la costa.

También estudiamos las diferencias que pudieran existir en el número de ácaros de las distintas especies en las muestras de polvo recogidas de colchones en casas de pacientes alérgicos a los ácaros y no alérgicos. En nuestro estudio, no encontramos diferencias significativas entre los niveles de ácaros en los colchones de estos dos grupos de pacientes. Sin embargo, cuando se estudiaron los ácaros de los colchones de los pacientes alérgicos que residían únicamente en el interior de la provincia de Alicante, se observó que estos pacientes tenían mayores niveles de *D. pteronyssinus* que los pacientes no alérgicos a los ácaros que también residían en el interior ( $p = 0,0376$ ).

Desconocemos el significado clínico que puede tener esta observación, pero nos ha permitido confirmar que los pacientes alérgicos a los ácaros no están implementando medidas de desalergenización que se les recomienda en la consulta. Por lo tanto, es importante poner más énfasis en que estos pacientes implementen en sus casas las medidas profilácticas de evitación de ácaros, como por ejemplo, aspirado regular del colchón, uso de fundas antiácaros para colchones y almohadas, aplicación de acaricidas y renovación frecuente de las sábanas y fundas de almohadas, así como otras medidas específicas para la reducción de los niveles de ácaros en los dormitorios. Esto nos lleva a la importante conclusión de que hay poner mucho más énfasis en las medidas de profilaxis para reducción de ácaros, que aunque son controvertidas<sup>148,149</sup>, en muchos trabajos han demostrado una eficacia clínica significativa en los pacientes alérgicos a ácaros<sup>150</sup>. La reducción en los niveles de ácaros y alergenos debe ser lo mayor posible para que estas medidas sean eficaces.

Otra conclusión importante de este estudio es la correlación negativa significativa que encontramos entre los niveles de *D. pteronyssinus* y de *D. farinae* en las muestras de polvo. Cuando los niveles de uno de estos ácaros son elevados, encontramos una disminución significativa, o ausencia de la otra especie (Spearman  $p = 0,0374$ ). Esto nos sugiere la existencia de una competencia mutua importante por el sustrato. Estos hallazgos

corroboran los estudios de Fernández-Caldas et al. en Florida, quienes encontraron resultados similares cuando compararon los niveles de Der p 1 y Der f 1 en las muestras de polvo<sup>151</sup>.

Una parte importante de esta tesis consistió en la cuantificación inmunoquímica de los alergenos Der p 1 y Der f 1 en las muestras de polvo. Los niveles de estos alergenos, cuantificados individualmente, y la suma de ambos que refleja la exposición al Grupo 1 de alergenos de los *Dermatophagoides*, nos da una idea del grado de exposición a alergenos de ácaros que tienen los pacientes en sus domicilios. Estas técnicas han sido usadas en muchos países para determinar la exposición a los alergenos de estos ácaros<sup>152,153,154</sup>. En nuestro estudio, encontramos un comportamiento similar de los alergenos Der p 1 y Der f 1 y de los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. Cuantificamos niveles significativamente superiores de Der p 1 y Der f 1 en la costa que en el interior. No encontramos diferencias significativas en los niveles de estos alergenos en los colchones de pacientes alérgicos y no alérgicos, como ocurrió con los niveles de ácaros en las mismas muestras de polvo. Los resultados de Der p 1 y Der f 1 de la costa son similares a los obtenidos en Almería<sup>143</sup>, y en otras regiones españolas<sup>155,156,157</sup>, y en general comparables con los obtenidos en otros países del mundo<sup>158,159,160</sup>.

Considerando los niveles de alergenos del grupo 1 en el total de las muestras de polvo analizadas, en la provincia de Alicante, el 65% de los colchones presentaron niveles de alergenos superiores a 2 µg/g polvo (umbral de sensibilización); un 40% de las muestras tenían niveles superiores 10 a µg/g polvo (mayor riesgo de sensibilización y posible aparición de síntomas). Estos niveles de alergeno del grupo 1 se pueden considerar como altos y podrían explicar el alto grado de sensibilización a los ácaros que existe en los pacientes de la provincia de Alicante. En la costa, el 79,7 % de los colchones tuvieron niveles superiores a 2 µg de grupo 1 *versus* 54,1% en los colchones del interior.

Al igual que ocurrió con los ácaros *Dermatophagoides*, no se encuentran diferencias significativas en los niveles de grupo 1 en los colchones de pacientes alérgicos y no alérgicos, ni en los niveles de alergenos en colchones de pacientes alérgicos y no alérgicos que residen en costa o interior. Existen pocas publicaciones que estudien diferencias en los niveles de alergeno en colchones, o casas, de pacientes alérgicos a los ácaros y controles. En

las referencias que pudimos revisar se observan resultados contradictorios, pero en general los niveles de ácaros en colchones de asmáticos y controles se obtienen diferentes niveles, aunque no se observan diferencias significativas, pudiendo incluso ser superiores en algunos casos en los colchones de los controles<sup>161,162,163,164</sup>. Habría que hacer un estudio más detallado, incorporando variaciones estacionales para contestar más correctamente esta pregunta.

Un grupo especial de muestras de polvo son las procedentes de pacientes que tiene dos viviendas, o residencias, en zonas con características climáticas diferentes. Nos referimos a sujetos que residen en una ciudad del interior durante los días laborales y los fines de semana, o en períodos vacacionales, se desplazan a descansar a viviendas en la zona costera. Se realizó un estudio comparativo de las muestras de polvo recogidas en colchones de ambas residencias en un grupo de 13 pacientes. Se observaron niveles significativamente superiores de *D. farinae* y de los alérgenos Der p 1 y Der f 1 en los colchones de costa. Estos resultados sugieren que un paciente que reside en el interior está expuesto a niveles inferiores de alérgenos de ácaros, y que se puede sensibilizar, o incluso experimentar un agravamiento de los síntomas, en su segunda residencia en la costa, donde se encuentran regularmente niveles superiores de ácaros. Estos estudios se corroboran con los datos publicados que indican la existencia de mayores niveles de ácaros en la costa<sup>165</sup>. Una observación común en la anamnesis de los pacientes que acuden a la consulta de alergia es la referencia del agravamiento de los síntomas cuando acuden a la residencia de la costa, que permanece cerrada durante semanas, o cuando extraen ropa o mantas de los armarios donde ha permanecido meses sin utilizar. También refieren la existencia en la casa de la costa de olor a humedad cuando permanece cerrada cierto tiempo, que relacionan con la presencia de sintomatología respiratoria y/o cutánea. La falta de ventilación de la vivienda, al no ser utilizada durante períodos de tiempo, crea un efecto de condensación en el ambiente, que favorece un aumento de la humedad relativa y facilita a su vez el crecimiento de ácaros y hongos, responsable del agravamiento de los síntomas.

Se ha estudiado la sensibilización *in vitro* a los ácaros del polvo más frecuentemente encontrados en las muestras de colchón y disponibles estandarizados. Se analizó la presencia de IgE específica frente a alérgenos de los ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *E. maynei*, *B.*

*tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae* en los sueros de los pacientes con sensibilización a los ácaros incluidos en este estudio. Como era de esperar, el porcentaje de sensibilización más frecuente fue para las especies de *Dermatophagoides*; 75% para *D. pteronyssinus* y 71% para *D. farinae*. Próximos a estos valores encontramos un porcentaje de sensibilización del 65% para *E. maynei*, seguido de *T. putrescentiae* con 28% y, en menor medida, de *B. tropicalis* (17%) y *L. destructor*, con un 17%. En este estudio no se incluyó *D. microceras*, al no haber sido identificado en las muestras de polvo.

En general, con las técnicas de detección *in vitro*, se obtienen porcentajes de sensibilización inferiores a los encontrados en prueba cutánea, dada la mayor sensibilidad de esta última técnica. Esto se constata en la mayor frecuencia de sensibilización observada para las especies de *Dermatophagoides* y *E. maynei* en las pruebas cutáneas y en la menor frecuencia observada para estas especies en las determinaciones de IgE específica *in vitro*. Hay que tener en cuenta que estas dos técnicas utilizan criterios de positividad distintos. En la prueba *in vivo*, un paciente se consideró positivo cuando la pápula fue mayor de 3 mm sobre el control negativo (suero fisiológico glicerinado), mientras que en la prueba *in vitro*, se consideró positivo cuando el valor de densidad óptica fue dos veces superior a la lectura del control negativo. Resultados similares se han obtenido en otros estudios cuando se comparan las pruebas cutáneas con los resultados de las determinaciones de IgE *in vitro* usando el mismo sistema de placas de microtitulación<sup>166</sup>.

Únicamente con la especie *B. tropicalis* encontramos una mayor frecuencia de sensibilización *in vitro* que *in vivo*. En este caso, se observó el doble de frecuencia que la observada en las pruebas cutáneas. Esto podría deberse a la presencia de reactividad cruzada entre *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*. Cuando se comparan los valores de IgE específica para los distintos ácaros mediante del test de Bonferoni, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas para los valores de IgE específica para las dos especies de *Dermatophagoides* y *E. maynei*. Sin embargo, si existen diferencias significativas con el resto de las especies. Igualmente, no se observa la existencia de diferencias estadísticamente significativas para los valores de IgE específica para las especies *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*, pero si con las otras especies. Este análisis sugiere una mayor reactividad cruzada entre los miembros de la familia

Pyroglyphidae y entre *B. tropicalis*, *T. putrescentiae* y *L. destructor*. Los valores necesarios para producir el 50% de inhibición también confirman las observaciones anteriores.

Cuando observamos los distintos patrones de unión a IgE que pueden observarse en este grupo de pacientes alérgicos a ácaros, comprobamos la existencia de unos patrones similares para los ácaros *B. tropicalis* y *T. putrescentiae*. La especie *B. tropicalis* pertenece a la misma familia Glycyphagidae que *L. destructor* y además, posee reactividad cruzada con la familia Acaridae, a la que pertenece *T. putrescentiae*. Esta reactividad cruzada podría explicar la mayor prevalencia *in vitro* de la sensibilización encontrada para *B. tropicalis* en relación con la prevalencia encontrada en las pruebas cutáneas.

Como se ha comentado previamente, y también se ha descrito en la literatura<sup>167</sup>, cuando se analizan sueros de pacientes alérgicos, se puede observar varios patrones de sensibilización. Estas diferencias en los patrones de sensibilización no habían sido analizadas en pacientes de la provincia de Alicante y pueden ser muy útiles desde un punto de vista clínico. En la muestra de sueros analizada, se puede observar una variación importante y significativa en cuanto a los valores de IgE específica para las distintas especies de ácaros analizadas. Existe un grupo reducido en el que predomina la sensibilización a todas las especies estudiadas. Estos pacientes suelen tener una severidad de la alergia respiratoria de tipo moderado a severa. Estos pacientes no han sido el objeto de un estudio más detallado para ver si el número de ácaros al que está sensibilizado tiene una relación con la severidad de su enfermedad, pero se sospecha que sí podrían tener síntomas al entrar en contacto con los alérgenos de estas especies, como hemos demostrado con las pruebas de provocación nasal realizadas. Para el tratamiento de estos pacientes, posiblemente sería necesario el uso de extractos de las especies a las cuales reacciona el paciente para cubrir una mayor espectro de epítomos alérgicos. Otro patrón que se observa con mucha frecuencia es el compuesto por pacientes con valores de IgE específica elevada únicamente para el grupo de ácaros pertenecientes al género de los *Dermatophagoides*, y a ácaros de especies que presentan reactividad cruzada con miembros de este género, como *E. maynei*. Este grupo, probablemente se beneficiaría con extractos de inmunoterapia que contengan alérgenos de estas especies. Este patrón es el más frecuentemente encontrado también en la consulta de alergia, cuando se realizan las pruebas alérgicas, debido a la

mayor prevalencia de estas especies de ácaros y sus alérgenos observados en las muestras de polvo y alto nivel de reactividad cruzada entre ellos. Otros patrones menos frecuentes lo compone un grupo reducido de pacientes con valores de IgE elevados para *T. putrescentiae*, *B. tropicalis* y *L. destructor* con valores inferiores de IgE específica para los Pyroglyphidae. Los diferentes patrones de sensibilización observados confirman que la respuesta inmunológica de los pacientes alérgicos a los ácaros en Alicante es altamente variable e individual, y que está basada principalmente en las características genéticas del paciente, del grado de exposición a las distintas especies de ácaros y de la reactividad cruzada entre ellas.

En el estudio de la reactividad cruzada entre los ácaros estudiados *in vitro*, observamos una importante reactividad cruzada con *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. Así mismo también observamos reactividad cruzada con *E. maynei*, pertenecientes todos a la familia Pyroglyphidae, mostrando los 3 ácaros líneas paralelas. Estos resultados también se ha observado anteriormente en relación con la prevalencia en la sensibilización *in vivo* para estas especies de ácaros, y con los resultados de los patrones de sensibilización *in vitro* que son similares para las 3 especies. Por otro lado, los resultados de inhibición para los otros 3 ácaros, *B. tropicalis*, *L. destructor* y *T. putrescentiae*, demuestran un grado de reactividad mucho mas bajo, en parte debido a su pertenencia a diferentes géneros y familias. Esta reactividad cruzada mínima detectada, también podría estar en relación con la baja prevalencia de estos ácaros en las muestras de polvo de la zona.

Aunque se ha sugerido que la mayoría de los ácaros tienen alérgenos comunes y específicos, cada día es más evidente que las distintas especies de ácaros tienen moléculas similares en su composición, muchas de las cuales están altamente conservadas. Sin embargo, si todos los alérgenos fueran iguales, los pacientes presentarían IgE específica a todas las especies, Las diferencias en la secuencias de aminoácidos a nivel de los epítomos es lo que condiciona que un paciente reconozca un alérgeno u otro. Otro factor muy importante es la condición genética del paciente y la exposición a las especies en el medio ambiente. El pool de suero de los pacientes seleccionados, cuando se incubaba con los distintos extractos de ácaros reconoce bandas proteicas (alérgenos) en una amplio rango pesos moleculares en todas las especies Sugiriendo la presencia de alérgenos comunes en esas zonas.



El correcto diagnóstico de la alergia consiste en realizar un estudio de los ácaros principales que se encuentran en la zona donde residen los pacientes y en la realización de pruebas cutáneas usando extractos de estos ácaros, estandarizados *in vivo* e *in vitro*, para demostrar la sensibilización de los pacientes. Este es un sistema muy similar al que se sigue en el diagnóstico de la alergia a pólenes, ya que en la mayoría de las regiones, los alergólogos españoles cuentan con calendarios y mapas polínicos que nos indican los periodos de polinización de las principales especies alergénicas. Sin embargo, hasta ahora la información sobre la fauna acarológica en España no es tan completa como para los pólenes y se desconoce la importancia alergológica de muchas especies de ácaros. Igualmente puede suceder, que alguna de las especies con la que contamos actualmente no sea la indicada en algunas regiones españolas, como por ejemplo *A. siro*, que no es una especie habitual en Alicante en muestras de colchones.

Para comprobar la implicación clínica de algunas especies de ácaros en el desarrollo de la enfermedad respiratoria y consecuentemente, administrar un tratamiento más específico con inmunoterapia, se diseñó la realización de pruebas de provocación específica con los ácaros más importantes encontrados en Alicante. Se realizaron 42 provocaciones nasales en 24 pacientes sensibilizados a *Dermatophagoides* spp. y se les realizó la provocación nasal con algunos de los siguientes ácaros: *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *L. destructor* o *T. putrescentiae*. Las provocaciones se realizaron con los alérgenos a los que estaban sensibilizados los pacientes, excepto a dos sujetos que se utilizaron como controles para *L. destructor* y *T. putrescentiae*, respectivamente.

En estudios previos se han realizado pruebas de provocación nasal y bronquial con extractos de *D. pteronyssinus*, comprobando que este es el alérgeno más prevalente en Europa y responsable principalmente de la patología respiratoria por la inhalación de alérgenos de ácaros.

En nuestro estudio realizamos pruebas de provocación nasal con *D. pteronyssinus* y *D. farinae* para determinar si ambas especies son responsables de patología respiratoria nasal en la zona de Alicante. En este grupo de 10 pacientes a los que se realizó provocación nasal con *D. pteronyssinus* y *D. farinae* se observa, en general, una buena correlación entre la respuesta nasal y el tamaño de la pápula. Los pacientes con provocación negativa a *D.*



pteronyssinus y *D. farinae* presentaron tamaño de la pápula inferior que los pacientes con provocación positiva. En trabajos previos se ha establecido una asociación entre la reacción cutánea y la respuesta nasal mediante provocación con extracto de *Dermatophagoides*<sup>168,169</sup>. En nuestro estudio observamos que 2 pacientes tuvieron una respuesta nasal negativa a *D. farinae* y una provocación nasal positiva con *D. pteronyssinus*. De igual modo, otros 2 pacientes con provocación nasal negativa para *D. pteronyssinus* presentaron una prueba de provocación nasal positiva con *D. farinae*. El resto de las provocaciones fueron positivas para ambos *Dermatophagoides*. Estos resultados nos sugieren la importancia de ambas especies de *Dermatophagoides* en la patología alérgica respiratoria en pacientes sensibilizados a ácaros en la zona de Alicante, con prueba cutánea positiva para ambas especies. Estos resultados tienen una importante implicación clínica en el tratamiento de estos pacientes. Ambas especies son agentes causales de sensibilización y de patología respiratoria, y por lo tanto deben estar implicados ambos alérgenos en el tratamiento específico con inmunoterapia. Sin embargo, como hemos observado, en determinados pacientes, solamente una especie de *Dermatophagoides* parece ser responsable de la clínica respiratoria. Resultados similares han sido obtenidos en otros estudios, donde se demuestra claramente que la respuesta a *D. pteronyssinus* puede ser más específica que a *D. farinae*, y viceversa<sup>170</sup>. En la literatura también se han publicado diversos trabajos para estudiar la respuesta nasal tras la provocación con *Dermatophagoides* después de haber instaurado tratamiento con inmunoterapia sublingual<sup>171</sup>, inmunoterapia nasal local<sup>172,173</sup> o subcutánea<sup>174</sup>.

En relación con otros ácaros de depósito no se han encontrado publicaciones de provocaciones nasales con medición del flujo nasal con rinomanometría. Existe un estudio clínico en una población de 36 granjeros a los que se les realizó provocación nasal y la respuesta se evaluó mediante la valoración de los síntomas clínicos producidos, con algunos de los siguientes ácaros de depósito *A. siro*, *L. destructor* o *T. putrescentiae*. Se halló signos de positividad clínica de rinitis en 5 granjeros con *L. destructor* y en 3 con *T. putrescentiae*<sup>175</sup>.

El ácaro *L. destructor* no se ha utilizado para la medición de la resistencia al flujo aéreo mediante provocación nasal. Ha sido constatada la implicación *L. destructor* en el asma ocupacional en trabajadores de silos mediante provocación bronquial con este ácaro<sup>176</sup>.

<sup>177,178</sup>. También se han realizado estudios mediante pruebas cutáneas y test de provocación bronquial con *L. destructor* para valorar la prevalencia de sensibilización a este ácaro entre trabajadores con exposición expuesto a granos de polvo, y se observó la prevalencia de sensibilización a ácaros de depósito entre pacientes sensibilizados a ácaros era del 11,88%<sup>179</sup>. El ácaro *L. destructor* también ha sido constatado como causa de reacción asmática tardía sin reacción inmediata previa tras provocación bronquial en un trabajador de silos<sup>180</sup>.

Todos estos trabajos recogen la implicación clínica y etiológica del ácaro *L. destructor* en los pacientes que están expuestos laboralmente a condiciones que favorecen el crecimiento de este ácaro de depósito, como son granjeros, o agricultores que trabajan con cereales silos, pero no disponemos información de pacientes expuestos a estos ácaros de depósito en ambientes domiciliarios. El *L. destructor* se encuentra en las muestras de polvo de los colchones Alicante en el 2,2 %. Sin embargo, en los estudios de prevalencia cutánea se observa una tasa de sensibilización para *L. destructor* del 37,4% en los pacientes sensibilizados a ácaros. Para determinar la implicación clínica del ácaro *L. destructor* en los pacientes con sensibilizados a ácaros, se realizaron 10 provocaciones nasales con *L. destructor* a pacientes que no estaban relacionados con ambientes laborales donde pudiese encontrarse este ácaro. Todos los pacientes tenían prueba cutánea positiva a *L. destructor* menos un paciente que se utilizó como control. La provocación nasal con *L. destructor* fue positiva en 6 pacientes que presentaban prueba cutánea positiva para *L. destructor* y valores de IgE específica para *L. destructor* superiores por encima de 2,1 kU/l. El resultado de la provocación nasal con *L. destructor* fue negativa en el paciente control, y además en otros 3 pacientes que presentaban pruebas cutáneas levemente positivas para *L. destructor* y en cambio no se detectaba IgE para *L. destructor*. Estos resultados corroboran la implicación clínica del ácaro *L. destructor* como agente etiológico de patología en pacientes expuestos en su domicilio a estos ácaros, sin relacionarse con su ambiente laboral.

En relación con el ácaro *T. putrescentiae* se describe en la literatura la realización de rinomanometría anterior pasiva en un grupo de niños alérgicos a los ácaros. En este grupo de niños que presentaban rinitis alérgica, hubo 12 pacientes que reaccionaron a *Dermatophagoides* y 8 que reaccionaron a otros ácaros como *T. putrescentiae* y *G. domesticus*<sup>181</sup>. Armentia et<sup>182</sup> al estudiaron la prevalencia de la sensibilización de los ácaros

del polvo en pacientes trabajadores expuestos a cereales y observaron que los ácaros de depósito *L. destructor* y *T. putrescentiae* la sensibilización era del 38%, *Blomia kulagini* del 34%, y *A. Siro* y *C. Arcuatus* del 24%. En cambio, en un estudio consecutivo de 133 pacientes alérgicos a ácaros en Dinamarca<sup>183</sup> observaron que el 45% de los pacientes tenían sensibilización al menos a un ácaro de depósito en pacientes que no estaban expuestos en ambientes laborales con cereales. En Alicante el ácaro de depósito *T. putrescentiae* a pesar de determinar su prevalencia cutánea en el 35% y *in vitro* en el 28%, no se observa una prevalencia muy elevada en las muestras de polvo de colchones (3,7%). Por una parte puede deberse a su hábitat diferente, por su localización en cocinas y en lugares donde se hay comida almacenada y por otra parte, se determinan niveles de IgE específica para *T. putrescentiae* altos coincidiendo con niveles elevados de IgE específica para *Dermatophagoides*, lo que puede implicar una cierta reactividad cruzada. Se realizaron 4 provocaciones nasales con *T. putrescentiae*. Una provocación nasal fue negativa, en el único paciente no sensibilizado a *T. putrescentiae* y las otras 3 fueron positivas. Además un sujeto de éstos, presentó provocación nasal negativa con *D. farinae*. Por tanto, dada su especificidad y su implicación clínica, se debería valorar la importancia de la sensibilización para *T. putrescentiae* en pacientes alérgicos a ácaros de depósito, incluidos pacientes no expuestos laboralmente a estos ácaros.

En relación con otros ácaros implicados en la patología respiratoria nasal no disponemos de pacientes suficientes como para realizar provocaciones nasales con *B. tropicalis*, dado que esta especie no de las más prevalentes en la zona de Alicante. Sin embargo, *B. tropicalis* es uno de las especies de ácaros mejor estudiadas *in vivo* e *in vitro*. En la literatura existen varios estudios de provocación nasal y bronquial con *B. tropicalis* en zonas donde es prevalente como, por ejemplo, en Tampa (Florida)<sup>184</sup>, Brasil<sup>185</sup>, Canarias<sup>116</sup>, o Singapur<sup>186</sup>. En los pacientes del grupo de estudio de Tampa se realizó provocación nasal con *B. tropicalis* en 19 sujetos; 12 de ellos con prueba cutánea positiva para *B. tropicalis* y el resto de los pacientes con respuesta cutánea negativa a *B. tropicalis* y positiva para *Dermatophagoides* spp. Mediante rinomanometría posterior se midió un incremento de la resistencia inspiratoria nasal en el 83% de los pacientes positivos a *B. tropicalis* y en ningún sujeto con prueba cutánea negativa a *B. tropicalis*, lo que demuestra la especificidad de la

respuesta alérgica in vivo a esta especie. En el trabajo de Brasil 10 niños con rinitis y sensibilización cutánea con *D pteronyssinus* y *B. tropicalis*. Se les realizó provocación nasal con Histamina, *D pteronyssinus* y *B. tropicalis*. Se midió el incremento de la resistencia nasal mediante rinomanometría anterior, parámetros clínicos, así como determinación de la función pulmonar. El 90% de los pacientes presentaron respuesta nasal positiva para *D pteronyssinus* y el 60% para *B. tropicalis*, pero no observaron correlación entre la concentración de alérgeno capaz de inducir respuesta nasal y la concentración que induce respuesta cutánea; en cambio, se encontró correlación con la respuesta nasal a la concentración de histamina. No se observó en ningún sujeto alteración en la respuesta pulmonar. En Singapur el ácaro del polvo más prevalente es *B. tropicalis*. Se ha realizado provocación nasal en 20 pacientes con rinitis (de ellos 5 con asma) y posteriormente se determinaron los parámetros respiratorios mediante espirometría y rinometría acústica así como mediadores celulares en secreciones nasales obtenidas mediante aspirado nasal. Se observó un incremento de los síntomas nasal objetivos y subjetivos tras provocación con *B. tropicalis*, así como un descenso del FEV1 en 3 pacientes. También se observó un incremento de la concentración de triptasa y LTC4 en la secreción nasal tras provocación con *B. tropicalis*.

Se han realizado dos estudios de provocación bronquial con extractos de *Blomia* spp., ambos por el mismo grupo de trabajo de García Robaína et al<sup>187, 116</sup>. La provocación fue positiva en 18 pacientes sensibilizados a *Blomia kulagini* y negativa en 5 sujetos controles. En el segundo trabajo se utilizó *B. tropicalis* y *D. pteronyssinus* para el test de provocación bronquial en 15 pacientes. La provocación bronquial con *B. tropicalis* fue positiva en 20 pacientes (18 sensibilizados y 2 no sensibilizados) y negativa en 12 sujetos (5 sensibilizados y 7 no sensibilizados). La provocación bronquial con *D pteronyssinus* fue positiva en todos los sujetos excepto en uno, que estaba sensibilizado únicamente a *B tropicalis*. Los autores indican que el ácaro *B tropicalis* es relevante en la zona, y que la falta en de respuesta bronquial en algunos sujetos sensibilizados a *B tropicalis*, puede deberse por reactividad cruzada con *D, pteronyssinus*.

Finalmente, fue estudiado un grupo seleccionado de 30 pacientes asmáticos con sensibilización a los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae* mediante pruebas cutáneas y determinación de IgE específica. Se realizó provocación bronquial específica con *D.*

pteronyssinus, para valorar la etiología de los ácaros *Dermatophagoides* spp. también en el desarrollo de asma bronquial. Todos los pacientes seleccionados presentaron una respuesta bronquial específica para *D. pteronyssinus*, con una PC<sub>20</sub> de  $2,2 \pm 2,8$  HEP. Estos valores no indican que niveles bajos de alérgeno de *D. pteronyssinus* nebulizado en pacientes sensibilizados son capaces de producir asma bronquial. Con posterioridad este grupo de pacientes se amplió y se administró inmunoterapia en 22 pacientes para *D. pteronyssinus* y *D. farinae* y 11 pacientes se utilizaron como controles administrando únicamente tratamiento sintomático (broncodilatadores y corticoides inhalados). Seis meses después se observó que el grupo tratado con inmunoterapia precisaba un incremento del doble la dosis de *D. pteronyssinus* para producir asma mediante provocación bronquial específica, mientras los pacientes controles sin inmunoterapia presentaban asma tras provocación bronquial con la misma dosis inicial de alérgeno<sup>21</sup>.

Por tanto, es importante identificar los ácaros presentes en nuestra área de trabajo, para incorporarlos a la batería de alérgenos utilizados en las pruebas diagnósticas y valorar la sensibilización que pueden producir en la población expuesta. Y mediante pruebas de provocación específica conocer la implicación que puedan tener en el desarrollo de las enfermedades respiratorias y poder realizar un tratamiento preventivo y etiológico con los ácaros responsables de las enfermedades respiratorias y cutáneas en los pacientes expuestos.

Resumiendo, se ha descrito el porcentaje de sensibilización a las distintas especies de ácaros en pacientes que acuden a la consulta de alergia en Alicante con sospecha de presentar patología respiratoria. Se ha observado que además de las especies de *Dermatophagoides*, se encuentra con alta prevalencia otras especies como *E. maynei* y a gran distancia se encuentran otras especies de ácaros como son la familia Acaridae y Glycyphagidae.

Se ha identificado la fauna acarológica de los colchones de pacientes alérgicos y no alérgicos a los ácaros, ya sean residentes en la costa como en el interior. Se ha confirmado la prevalencia de las dos especies más habituales halladas en las pruebas cutáneas, *D. pteronyssinus* y *D. farinae* y con una menor proporción se han identificado ácaros de depósito, así como se han descrito ácaros como *Cheyletus* spp, *Histiostoma feroniarum*,

*Cosmochthonius simplex* y *Tarsonemus* spp. de los cuales desconocemos actualmente la sensibilización como la implicación clínica en los pacientes expuestos.

Se ha determinado niveles significativamente superiores en la costa de ácaros totales, *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, de sus respectivos alergenos Der p 1 y Der f 1, y de los niveles de alergenos del grupo I. No se encuentran diferencias en los niveles de ácaros y sus especies entre pacientes alérgicos y no alérgicos a los ácaros del polvo.

En los pacientes con dos residencias, interior y costa, se identificaron niveles superiores de *D. farinae* y Der p1 y Der f 1.

La prevalencia de la determinación de IgE específica *in vitro* es menor que la encontrada *in vivo*, salvo para las especies *B. tropicalis* y *E. maynei*; la prevalencia de estas especies puede ser debido a la reactividad cruzada que presentan con las especies más prevalentes.

Se han realizado provocaciones nasales con las especies de ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *L. destructor* y *T. putrescentiae* para confirmar la etiología clínica de la patología nasal cuando los pacientes están sensibilizados, así como la etiología en el asma de los pacientes sensibilizados a *Dermatophagoides*.

Este trabajo abre las puertas para el tratamiento con inmunoterapia específica de ácaros de depósito que están causando patología respiratoria. Y por otro lado, la descripción de nuevos ácaros en el polvo doméstico crea nuevos retos para la producción de nuevos extractos de ácaros, y el posterior estudio de la sensibilización en la población expuesta y determinar la probabilidad de desarrollo de enfermedades alérgicas con estos ácaros descritos.

## **CONCLUSIONES**



1. En una muestra de 91 pacientes de la consulta de alergia con sintomatología respiratoria y con sensibilización a ácaros del polvo se observa una sensibilización cutánea del 100% para los ácaros de la familia Pyroglyphidae. La especie *D. pteronyssinus* representa el mayor nivel de sensibilización y le sigue con niveles muy próximos la especie *D. farinae*, y a continuación las especies *D. microceras* y *E. maynei*.

2. La familia Glycyphagidae está presente en la población de pacientes alérgicos a los ácaros en un 39,6%, principalmente debido a la mayor prevalencia en la sensibilización por *L. destructor* en los pacientes residentes en la costa. La especie *B. tropicalis* no tiene importancia alérgica en nuestra zona.

3. La familia Acaridae, con la especie *T. putrescentiae* presenta un porcentaje de sensibilización similar a la familia Glycyphagidae. No se observan diferencias significativas entre pacientes residentes en costa o interior.

4. En el estudio acarínico del total de las muestras de polvo recogidas de los colchones de la provincia de Alicante de este estudio, se han identificado 16 especies diferentes de ácaros. Del total de ácaros identificados el 54% corresponden a *D. pteronyssinus* y el 51% a *D. farinae*. Con menor frecuencia se han identificado en el 6,2% de las muestras *Cheyletus* spp y *Chosmochthonius simplex*; en el 3,7% *T. putrescentiae*; *E. maynei* y *G. domesticus* en el 3,7%; y *L. destructor* y *Histioglyphus feroniarum* en el 2,2 %.

5. En las muestras de polvo de los colchones de casas de la costa se encuentran niveles significativamente mayores en el número total de ácaros, y de los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae* en relación con los colchones de las casas situadas en el interior.

6. No se encuentran diferencias significativas en el número total de ácaros ni de sus especies entre los colchones de los pacientes alérgicos y no alérgicos, excepto en pacientes alérgicos con residencia en el interior, cuyos niveles de *D. pteronyssinus* son significativamente superiores.



7. En las muestras de polvo se observa una correlación estadísticamente negativa entre los niveles de *D. pteronyssinus* y *D. farinae*.

8. La cuantificación de los niveles de alérgenos de los *Dermatophagoides* Der p 1 y Der f 1 son significativamente mayores en la costa en relación con los niveles del interior, sin observarse diferencias entre los colchones de pacientes alérgicos y no alérgicos.

9. Se han determinado niveles altos de alérgenos del grupo 1 en las muestras de polvo analizadas, siendo también los niveles del grupo 1 superiores en la costa. El 65% de los colchones presentaban niveles de alérgenos superiores a 2 µg/ g de polvo y el 40% niveles superiores a 10 µg/ g de polvo.

10. La determinación de IgE específica *in vitro* para ácaros en los pacientes alérgicos estudiados obtiene porcentajes de sensibilización menores que *in vivo*. Se detecta IgE específica en el 75% para *D. pteronyssinus*, 71% para *D. farinae*, 65% para *E. maynei*, 28% *T. putrescentiae*, 22% para *B. tropicalis* y 17% para *L. destructor*. En las especies *E. maynei* y *B. tropicalis* se encuentran niveles superiores de sensibilización *in vitro* que *in vivo* que puede ser debido a la reactividad cruzada entre especies.

11. El patrón de sensibilización más frecuente reproducido en los sueros de los pacientes alérgicos corresponde a la determinación de IgE específica para las especies de la familia Pyriglyphidae, correspondientes a *D. pteronyssinus*, *D. farinae* y *E. maynei*.

12. El estudio de la reactividad cruzada de ácaros *in vitro*, muestra una importante reactividad entre *D. pteronyssinus* y *D. farinae* así como *E. maynei*, siendo el grado reactividad cruzada mucho menor con el resto de los ácaros.

13. En los pacientes sensibilizados a *D. pteronyssinus* y *D. farinae* se observa una asociación entre la respuesta de la provocación nasal específica positiva y el resultado de las pruebas cutáneas.

14. Algunos pacientes sensibilizados a *Dermatophagoides* únicamente presentan una respuesta nasal positiva a una determinada especie de *Dermatophagoides*.

15. Se ha observado la implicación clínica de los ácaros *L. destructor* y *T. putrescentiae* en los pacientes sensibilizados a estos ácaros en sus domicilios, sin exposición laboral alta, mediante pruebas de provocación nasal específica.

16. En sujetos con asma estacional o perenne, con sensibilización a *Dermatophagoides* mediante prueba cutánea y determinación de IgE específica *in vitro*, se observa la implicación clínica *D. pteronyssinus* en la patología asmática.



## **BIBLIOGRAFÍA**



- 
1. Kern R. Dust sensitization in bronchial asthma. *Med. Clin N.Amer* 1921; 5:751-58.
  2. Cooke R. Studies in specific hypersensitivity. IV. New etiologic factors in bronchial asthma. *J Immunol* 1922; 7:147-62.
  3. Storm Van Leeuwen W. Bronchial asthma in relation to climate. *Proc. Roy.Soc.Med.* 1924; 17:19-26.
  4. Oshima S Observations on four mites collected in Yokohama. I. On the mites found in several schools in summer. *Jap.J.Sanitary Zool* 1964; 15:233-44.
  5. Voorhorst R., Spieksma-Boezeman M.I.A., Spieksma F. Is a mite (*Dermatophagoides spp*) the producer of the house-dust allergen?. *Allerg. Asthma* 1964; 329-34.
  6. Fain A. Nouvelle description de of *D. pteronyssinus* (Trouessart, 1897) importance de cet Acarien et pathologie humaine (Psoroptidae:Sarcoptiformes). *Acarologia* 1966; 8:302-27.
  7. Soliman MY, Rosenstreich DL. Natural immunity to dust mites in adults with chronic asthma. I. Mite-specific serum IgG and IgE. *Am Rev Respir Dis.* 1986;134:962-8.
  8. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TA, Cogswell JJ. Exposure to house-dust mite allergen (Der p I) and the development of asthma in childhood. A prospective study. *N Engl J Med.* 1990;323:502-7.
  9. Platts-Mills TA, Thomas WR, Aalberse RC, Vervloet D, Chapman MD. Dust mite allergens and asthma: report of a second international workshop. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;89:1046-60.
  10. Floyer J.A *Treatise of the Asthma* R.Wilkin Publ. London1968; 203pp.
  11. Dekker H. Asthma und Milben. *Munch. Med. Wschr.*1987;75:515-516.
  12. Carter H., Wedd G., D`Abrera V.The occurrence of mites (Acarina) in human sputum and their possible significance. *Indian Med.Gaz.*1994;79:163-8.
  13. Miyamoto T., Oshima S., Ishizaki T., Sano S. Allergenic identity between the common floor mite (*Dermatophagoides farinae* Hughes 1961) and house dust miete as a causative agent in bronchial asthma. *J. Allergy* 1968; 42:14.

- 
14. Bullock JD, Frick OL. Mite sensitivity in house dust-allergic children. Evaluation by clinical and laboratory methods. *Am J Dis Child*. 1972;123:222-6.
  15. Kawai T, Marsh DG, Lichtenstein LM, Norman PS. The allergens responsible for house dust allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1972;50:117-27.
  16. Virchow C, Roth A, Moller E. IgE antibodies to house dust, mite, animal allergens and moulds in house dust hypersensitivity. *Clin Allergy*. 1976;6:147-54.
  17. Chapman MD. Mite allergens and asthma. *Curr Opin Immunol*. 1989-90;2:525-30.
  18. Dust mite allergens and asthma: a worldwide problem. International Workshop report. *Bull World Health Organ* 1988;66:769-80.
  19. Fernández-Caldas E. Mite species of allergologic importance in Europe. *Allergy*. 1997;52:383-7.
  20. Ferrer A, Custardoy J, Iraola V, Marañón F, Fernández-Caldas E. Mite exposure and sensitisation in Alicante, Spain. *Allergy* 2001;56 (Suppl 68):245.
  21. Ferrer A, Garcia-Selles J. Significant improvement in symptoms, skin test, and specific bronchial reactivity after 6 months of treatment with a depigmented, polymerized extract of *Dermatophagoides pteronyssinus* and *D. farinae*. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2003;13:244-51.
  22. Ferrer A, García-Selles J. SIT with a depigmented, polymerized mite extract. *Allergy*. 2002;57:754-5.
  23. Arlian LG, Platts-Mills TA. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107(3 Suppl):S406-13.
  24. Spiekma, FThM. Domestic mites from an acarologic perspective. *Allergy* 1997; 52: 360-8.
  25. Colloff MJ. Taxonomy and identification of dust mites. *Allergy*. 1998;53(48 Suppl):7-12.
  26. Colloff MJ, Spiekma FT. Pictorial keys for the identification of domestic mites. *Clin Exp Allergy*. 1992;22:823-30.
  27. Eraso E, Guisantes JA. Taxonomia; in IFIDES-ARISTEGUI (Eds.): *Ácaros productores de alergia*. Bilbao, Industrial farmacéutica y de especialidades, S. A., 1994, p 4.

- 
28. Raford, CD. Systematic check list of mite genera and type species. International Union of Biological Sciences Ser C- 1950; 1: 1-232.
  29. Krantz GW. A manual of Acarology. Oregon State University Book Stores, Inc. Corvallis, Oregon 1978.
  30. Spieksma FTM. Domestic mites from an acarologic perspective. Allergy 1997;52:360-8.
  31. Colloff MJ. Effects of temperature and relative humidity on development times and mortality of eggs from laboratory and wild populations of the European house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). Exp Appl Acarol. 1987;3:279-89.
  32. Mercado D, Puerta L, Caraballo L. Life-cycle of *Suidasia medanensis* (Pontifica) (Acari:Suidasiidae) under laboratory conditions in a tropical environment Exp Appl Acarology 2001;25:751-5.
  33. Pulpan J, Verner Ph. Control of Tyroglyphoid mites in stored grain by the predatory mite *Cheyletus eruditus* (Schrank). Can J Zool. 1965 May;43:417-32.
  34. Yoshikawa M. Skin lesions of papular urticaria induced experimentally by *Cheyletus malaccensis* and *Chelacaropsis* sp. (Acari: Cheyletidae). J Med Entomol. 1985;22:115-7.
  35. Puerta L, Fernández-Caldas E, Mercado D, Lockey RF, Caraballo LR. Sequential determinations of *Blomia tropicalis* allergens in mattress and floor dust samples in a tropical city. J Allergy Clin Immunol. 1996;97:689-91.
  36. Arlian LG, Woodford PJ, Bernstein IL, Gallagher JS. Seasonal population structure of house dust mites, *Dermatophagoides* SPP. (acari: Pyroglyphidae). J Med Entomol. 1983;20:99-102.
  37. Arlian LG, Bernstein IL, Gallagher JS. The prevalence of house dust mites, *Dermatophagoides* spp, and associated environmental conditions in homes in Ohio. J Allergy Clin Immunol. 1982;69:527-32.
  38. Blanco C, Quiralte J, Castillo R et al. Anaphylaxis after ingestion of wheat flour contaminated with mites. J Allergy Clin Immunol 1997; 3: 308-13.
  39. Sánchez-Borges M, Capriles-Hulett A, Fernández-Caldas E et al. Mite-contaminated foods as a cause of anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol 1997; 6: 738-43.

- 
40. O'Connor BM. Astigmata, in Parker S (ed): Synopsis and Classification of Living Organisms Vol 2. New York, McGraw Hill, 1982, pp146-69.
  41. Tovey ER, Mahmic A, McDonald LG. Clothing—an important source of mite allergen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:999-1001.
  42. Naspitz CK, Diniz C, Rizzo MC, Fernández-Caldas E, Solè D. Human scalps as a reservoir of domestic mites. *Lancet* 1997; 349:404.
  43. Arlian LG, Bernstein IL, Gallagher JS. The prevalence of house dust mites, *Dermatophagoides* spp. And associated environmental conditions in homes in Ohio. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69:527-32.
  44. Korsgaard J, Hallas TE. Tarsonemid mites in Danish hose dust. *Allergy* 1979; 34: 225-32.
  45. Hart BJ, Fain A. A new technique for the isolation of mites exploiting the differences in density between ethanol and saturated NaCl: Qualitative and quantitative studies. *Acarologia* 1987; 28:251-4.
  46. Colloff MJ. Differences in development, time, mortality and water loss between egg from laboratory and wild populations of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart 1987) (Acari; Pyrologyphidae.) *Exp Appl Acarol* 1987; 3:191-200.
  47. Le Mao J, Pauli G, Tekaiia F, Hoyet C, Bischoff E, David B. Guanine content and *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens in house dust samples. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 926-33.
  48. Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, Weghofer M, Kundi M, Horak F, Kraft D, Valenta R. Component-resolved diagnosis of house-dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clin Exp Allergy*. 2004;34:597-603.
  49. Valenta R, Kraft D. Recombinant allergens: from production and characterization to diagnosis, treatment, and prevention of allergy. *Methods*. 2004;32:207-8.
  50. Robinson C, Kalsheker NA, Srinivasan N, King CM, Garrod DR, Thompson PJ, Stewart GA. On the potential significance of the enzymatic activity of mite allergens to immunogenicity. Clues to structure and function revealed by molecular characterization. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:10-21.
  51. Asokanathan N, Graham PT, Stewart DJ, Bakker AJ, Eidne KA, Thompson PJ, Stewart GA. House dust mite allergens induce proinflammatory cytokines from

- 
- respiratory epithelial cells: the cysteine protease allergen, Der p 1, activates protease-activated receptor (PAR)-2 and inactivates PAR-1. *J Immunol.* 2002;169:4572-8.
52. Chua KY, Stewart GA, Thomas WR, Simpson RJ, Dilworth RJ, Plozza TM, Turner KJ. Sequence Analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p I Homology with cysteine proteases. *J Exp Med* 1988; 167:175-2.
53. Schulz O, Sewell HF, Shakib F. The interaction between the dust mite antigen Der p 1 and cell-signalling molecules in amplifying allergic disease. *Clin Exp Allergy* 1999;29:439-44.
54. Wan H, Winton HL, Soeller C, Taylor GW, Gruenert DC, Thompson PJ, Cannell MB, Stewart GA, Garrod DR, Robinson C. The transmembrane protein occludin of epithelial tight junctions is a functional target for serine peptidases from faecal pellets of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy.* 2001;31:279-94.
55. Schulz O, Laing P, Sewell HF, Shakib F. Der p I, a major allergen of the house dust mite, proteolytically cleaves the low-affinity receptor for human IgE (CD23). *Eur J Immunol* 1995;25:3191-4.
56. Ghaemmaghami AM, Shakib F. Human T cells that have been conditioned by the proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 trigger enhanced immunoglobulin E synthesis by B cells. *Clin Exp Allergy.* 2002;32:728-32.
57. Smith WA, Chua KY, Kuo MC, Rogers BL, Thomas WR. Cloning and sequencing of the *Dermatophagoides pteronyssinus* group III allergen, *Der p* III. *Clin Exp Allergy* 1994;24: 220-8.
58. Lake FR, Ward LD, Simpson RJ, Thompson PJ, Stewart GA. House dust mite-derived amylase: allergenicity and physicochemical characterisation. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:1035-42.
59. O'Neill G, Donovan GR, Baldo BA. Identification of a major allergen of the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, homologous with glutathione S-transferase. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1219: 521-4.
60. King C, Simpson RJ, Moritz RL, Reed G, Thompson PJ, Stewart GA. The isolation and characterisation of a novel collagenolytic serine protease allergen (Der p 9) from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 739-47.



- 
61. McCall C, Hunter S, Stedman K, Weber E, Hillier A, Bozic C, Rivoire B, Olivry T. Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen (Der f 15) for dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;10;78:231-47.
  62. Heymann PW, Chapman MD, Aalbarse RC, Fox JW, Platts-Mills TAE. Antigenic and Structural analysis of group II allergens. *Der f II* and *Der p II* from house mite *Dermatophagoides* spp. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:1055-68.
  63. Park GM, Lee SM, Lee IY, Ree HI, Kim KS, Hong CS, Yong TS. Localization of a major allergen, Der p 2, in the gut and faecal pellets of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy.* 2000;30:1293-7.
  64. Caraballo L, Puerta L, Jimenez, S, Martinez B, Mercado D, Avjioglu A, Marsh D. Cloning and IgE binding of a recombinant allergen from the mite *Blomia tropicalis*, homologous with fatty acid-binding proteins. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 112:341-7.
  65. Epton MJ, Dilworth RJ, Smith W, Hart BJ, Thomas WR. High-molecular-weight allergens of the house dust mite: an apolipoprotein-like cDNA has sequence identity with the major M-177 allergen and the IgE-binding peptide fragments Mag1 and Mag3. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999;120:185-91.
  66. Kawamoto S, Suzuki T, Aki T, Katsutani T, Tsuboi S, Shigeta S, Ono K. Der f 16: a novel gelsolin-related molecule identified as an allergen from the house dust mite, *Dermatophagoides farinae*. *FEBS letter* 2002;516:234-8.
  67. Aki T, Kodama T, Fujikawa A, Miura K, Shigeta S, et al. Immunochemical characterization of recombinant and native tropomyosin as a new allergen from the house dust mite, *Dermatophagoides farinae*. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:74-83.
  68. Tsai LC, Sun YC, Chao PL, Ng HP, Hung MW, Hsieh KH, Liaw SH, Chua KY. Sequence analysis and expression of a cDNA clone encoding a 98-KDa allergen in *Dermatophagoides farinae*. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1606-13.
  69. Ramos J, Nge C, Wah LB, Chua K Y. cDNA Cloning and Expression of Blo t 11, the *Blomia tropicalis* Allergen Homologous to Paramyosin. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:286-93.

- 
70. Lin KL, Hsieh KH, Thomas WR, Chiang BL, Chua KY. Characterization of Der p 5 allergen, cDNA analysis and IgE-mediated reactivity of the recombinant protein. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 94:989-96.
  71. Shen HD, Chua KY, Lin WL, Hsieh KH, Thomas WR. Molecular cloning and immunological characterization of the house dust mite allergen Der f 7. *Clin Exp Allergy* 1995; 25:1000-6.
  72. Shen HD, Chua KY, Lin KL, Hsieh KH, Thomas WR. Molecular cloning of a house dust mite allergen with common antibody binding specificities with multiple components in mite extracts. *Clin Exp Allergy*. 1993;23:934-40.
  73. Puerta L, Caraballo L, Fernández-Caldas E, Avjioglu A, Marsh DG, Lockey RF, Dao ML. Nucleotide sequence analysis of a complementary DNA coding for a *Blomia tropicalis* allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:932-7.
  74. Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, Mills KL, O'Brien RM. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:1-18.
  75. Eraso E, Guisantes JA, Martinez J, Saenz-de-Santamaria M, Martinez A, Palacios R, Cisterna R. Kinetics of allergen expression in cultures of house dust mites, *Dermatophagoides pteronyssinus* and *D. farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *J Med Entomol* 1997;34:684-9.
  76. Lack of allergenic cross-reactivity between storage mites and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Allergy* 1987; 17: 23-31.
  77. Smith AM, Benjamin D, Hozic N, Derewenda U, Smith W, Thomas W, Gafvelin G, van Hage-Hamsten M, Chapman M. The molecular basis of antigenic cross-reactivity between the group 2 mite allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:977-84
  78. Johansson E, Schmidt M, Johansson SGO, MachadoL, Olsson S, Van Hage Hamsten M. Allergenic cross-reactivity between *Lepidoglyphus destructor* and *Blomia tropicalis*. *Clin Exp Allergy* 1997; 27:691-719.
  79. Johansson E, Aponno M, Lundberg M, van Hage-Hamsten M. Allergenic cross-reactivity between the nematode *Anisakis simplex* and the dust mites *Acarus siro*,

- 
- Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Dermatophagoides pteronyssinus*. Allergy 2001;56:660-6.
- 80 Colloff MJ, Merrett TG, Merrett J, McSharry C, Boyd G. Feather mites are potentially an important source of allergens for pigeon and budgerigar keepers. Clin Exp Allergy. 1997; 27:60-7.
81. Sinha RN, van Bronswijk JE, Wallace HA. House dust allergy, mites and their fungal associations. Can Med Assoc J. 1970;103:300-1.
82. Van Bronswijk JE, Reumer JW, Pickard R. Effects of fungicide treatment and vacuuming on pyroglyphid mites and their allergens in mattress dust. Exp Appl Acarol. 1987;3:271-8.
83. Kumud, Mathur Rb. Influence of Ultraviolet radiation on the survival of the acarid mite, *Tyrophagus putrescentiae* (Astigmata:Acaridae). Progress in Acarology 1989;2:249-53.
84. Elixmann JH, Bischoff E, Jordew, Linskens HF. Changements during 2 years in populations of different mite species inhouse dust before and after a single acaricidal treatment. Acarology 1991; t.XXXII, fasc 4.
85. Mucuoglu Y, Schlein Y Sulfaquinoxaline, a possible means for the control of the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. Rev.Suisse de Zool. 1978: T 85.
- 86 Korsgaard J. Mite asthma and residency. A case-control study on the impact of exposure to house-dust mites in dwellings.Am Rev Respir Dis. 1983; 128: 231-5.
- 87 Kinnaird CH. Thermal death point of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart,1897) (Astigmata, Pyroglyphidae), the house dust mite. Acarologia 1974; 16: 340-2.
- 88 De Boer R. The control of house dust mite allergens in rugs. J Allergy Clin Immunol. 1990; 86: 808-14.
- 89 Lintner TJ, Brame KA. The effects of season, climate, and air-conditioning on the prevalence of *Dermatophagoides* mite allergens in household dust. J Allergy Clin Immunol. 1993;91:862-7.
- 90 Harving H, Korsgaard J, Dahl R. House-dust mites and associated environmental conditions in Danish homes. Allergy.1993;48: 106-9.

- 
- 91 Wickman M, Gravesen S, Nordvall SL., Pershagen G, Sundell J. Indoor viable dust-bound microfungi in relation to residential characteristics, living habits, and symptoms in atopic and control children. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 752-9.
- 92 Sanda T, Yasue T, Oohashi M, Yasue A.. Effectiveness of house dust-mite allergen avoidance through clean room therapy in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1992; 89: 653-7.
- 93 Reisman RE, Mauriello PM, Davis GB, Georgitis JW, Demasi JM. A double-blind study of the effectiveness of a high-efficiency particulate air (HEPA) filter in the treatment of patients with perennial allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85: 1050-7.
- 94 Stepien Z. Effect of carbon dioxide on *Tyrophagus putrescentiae* (Acarina:Acaridae). 4th International Congress of acarology 1994;249-255.
- 95 Shejbal J.. Storage of cereal grains in nitrogen atmosphere. *Cereal Foods World* 1979; 24:129-97.
- 96 Flores J., Lorenzo F., Catala F. Eliminación de los ácaros del jamón curado mediante tratamiento con gases. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 1989 Universidad de Valencia
- 97 Pagani M., Ciampitti M.. Mite control on seasoned pork products by modified atmospheres Preliminary test. II Proceedings of the Fifth International working conference of stored- Product protection 1990. Bordeaux, France, September 9-14.
- 98 Guerrero L., Arnau J.. Dry cured hams, chemical methods to control mites. *Fleischwirtschaft*. 1995.
99. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N; Aria Workshop Group; World Health Organization. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(5 Suppl):S147-334.
100. van Cauwenberge P, Bachert C, Passalacqua G, Bousquet J, Canonica GW, Durham SR, Fokkens WJ, Howarth PH, Lund V, Malling HJ, Mygind N, Passali D, Scadding GK, Wang DY. Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis. *European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Allergy*. 2000;55:116-34.
101. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO workshop report. National Institutes of Health, National

- 
- Heart, Lung and Blood Institute; 1995. National Institutes of Health publication no. 95-3659.
102. Guidelines for the diagnosis and management of asthma—update on selected topics, 2002. National Asthma Education and Prevention Program. Bethesda (MD): National Institutes of Health; 2002. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:S141-S218.
  103. Dreborg S. Skin tests used in type I allergy testing. Position paper of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1989; 44 (Suppl 10): 52-9.
  104. Fernández-Caldas E, Puerta L, Mercado D, Lockey RF, Caraballo LR. Mite fauna, Der p I, Der f I and *Blomia tropicalis* allergen levels in a tropical environment. *Clin Exp Allergy*. 1993;23:292-7.
  105. Hughes AM. The mites of stored food and houses. Ministry of Agricultura, Fisheries and Food. Her Majesty's Stationery Office. London 1976.
  106. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-5
  107. Hytonen M, Sala E. Nasal provocation test in the diagnostics of occupational allergic rhinitis. *Rhinology* 1996;34:86-90.
  108. Clement PA. Rhinomanometry. *Allergy* 1997;52(33 Suppl):26-7.
  109. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJ, Hargreave FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977;7:235-43.
  110. Frolund L. Bronchial allergen challenge methodological studies. *Allergy* 1996;51(29 Suppl):1-41.
  111. van Hage-Hamsten M, Johansson SG, Hoglund S, Tull P, Wiren A, Zetterstrom O. Storage mite allergy is common in a farming population. *Clin Allergy*. 1985;15:555-64.
  112. Armentia A, Tapias J, Barber D, Martin J, de la Fuente R, Sanchez P, Salcedo G, Carreira J. Sensitization to the storage mite *Lepidoglyphus destructor* in wheat flour respiratory allergy. *Ann Allergy*. 1992;68:398-403.
  113. Revsbech P, Dueholm M. Storage mite allergy among bakers. *Allergy*. 1990;45:204-8.

- 
114. van der Heide S, Niemeijer NR, Hovenga H, de Monchy JG, Dubois AE, Kauffman HF. Prevalence of sensitization to the storage mites *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Lepidoglyphus destructor* in allergic patients with different degrees of sensitization to the house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy*. 1998;53:426-30.
  115. Sánchez-Borges M, Capriles-Hulett A, Caballero-Fonseca F, Fernandez-Caldas E. Mite and cockroach sensitization in allergic patients from Caracas, Venezuela. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;90:664-8.
  116. García Robaina JC, Sánchez Machín I, Fernández-Caldas E, Iraola Calvo V, Vazquez Moncholi C, Bonnet Moreno C, de la Torre Morin F. Skin tests and conjunctival and bronchial challenges with extracts of *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in patients with allergic asthma and/or rhinoconjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003;131:182-8.
  117. van Hage-Hamsten M, Johansson E. Clinical and immunologic aspects of storage mite allergy. *Allergy*. 1998;53(48 Suppl):49-53.
  118. Musken H, Fernandez-Caldas E, Maranon F, Franz JT, Masuch G, Bergmann KC. In vivo and in vitro sensitization to domestic mites in German urban and rural allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2002;12:177-81.
  119. Johansson E, Johansson SG, Van Hage-Hamsten M. Allergenic characterization of *Acarus siro* and *Tyrophagus putrescentiae* and their crossreactivity with *Lepidoglyphus destructor* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy*. 1994;24:743-51.
  120. van Hage-Hamsten M, Johansson SG, Johansson E, Wiren A. Lack of allergenic cross-reactivity between storage mites and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Allergy*. 1987;17:23-31.
  121. Terho EO, Vohlonen I, Husman K, Rautalahti M, Tukiainen H, Viander M. Sensitization to storage mites and other work-related and common allergens among Finnish dairy farmers. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1987;152:165-74.
  122. Parvaneh S, Johansson E, Elfman LH, van Hage-Hamsten M. An ELISA for recombinant *Lepidoglyphus destructor*, Lep d 2, and the monitoring of exposure to dust mite allergens in farming households. *Clin Exp Allergy*. 2002;32:80-6.

- 
123. Olsson S, van Hage-Hamsten M. Allergens from house dust and storage mites: similarities and differences, with emphasis on the storage mite *Lepidoglyphus destructor*. Clin Exp Allergy. 2000;30:912-9.
  124. Park JW, Ko SH, Yong TS, Ree HI, Jeoung BJ, Hong CS. Cross-reactivity of *Tyrophagus putrescentiae* with *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in urban areas. Ann Allergy Asthma Immunol. 1999;83(Pt 1):533-9.
  125. Puerta Llerena L, Fernandez-Caldas E, Caraballo Gracia LR, Lockey RF. Sensitization to *Blomia tropicalis* and *Lepidoglyphus destructor* in *Dermatophagoides* spp-allergic individuals. J Allergy Clin Immunol. 1991;88:943-50.
  126. Caraballo L, Puerta L, Fernandez-Caldas E, Lockey RF, Martinez B. Sensitization to mite allergens and acute asthma in a tropical environment. J Investig Allergol Clin Immunol. 1998;8:281-4.
  127. Vidal C, Chomon B, Perez-Carral C, Gonzalez-Quintela A. Sensitization to *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Acarus siro* in patients allergic to house dust mites (*Dermatophagoides* spp.). J Allergy Clin Immunol. 1997;100:716-8.
  128. Gaig P, Botey J, Pena M, Marin A, Eseverri JL. Study of the sensitization to storage mites in a pediatric population in Barcelona. J Investig Allergol Clin Immunol. 1993;3:151-5.
  129. Marx JJ Jr, Twiggs JT, Ault BJ, Merchant JA, Fernandez-Caldas E. Inhaled aeroallergen and storage mite reactivity in a Wisconsin farmer nested case-control study. Am Rev Respir Dis. 1993;14:354-8.
  130. Fernández-Caldas E, Baena-Cagnani CE, Lopez M, Patino C, Neffen HE, Sanchez-Medina M, Caraballo LR, Huerta Lopez J, Malka S, Naspitz CK, et al. Cutaneous sensitivity to six mite species in asthmatic patients from five Latin American countries. J Investig Allergol Clin Immunol. 1993;3:245-9.
  131. Vidal C, Boquete O, Gude F, Rey J, Meijide LM, Fernandez-Merino MC, Gonzalez-Quintela A. High prevalence of storage mite sensitization in a general adult population. Allergy. 2004;59:401-5.



- 
132. Vidal C, Chomon B, Perez-Carral C, Gonzalez-Quintela A. Sensitization to *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Acarus siro* in patients allergic to house dust mites (*Dermatophagoides* spp.). *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100:716-8.
  133. Arlian LG, Rapp CM, Fernández-Caldas E. Allergenicity of *Euroglyphus maynei* and its cross-reactivity with *Dermatophagoides* species. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;91:1051-8.
  134. Morgan MS, Arlian LG, Barnes KC, Fernandez-Caldas E. Characterization of the allergens of the house dust mite *Euroglyphus maynei*. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100:222-8.
  135. Morgan MS, Arlian LG, Fernandez-Caldas E. Cross-allergenicity of the house dust mites *Euroglyphus maynei* and *Blomia tropicalis*. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;77:386-92.
  136. Daengsuwan T, Lee BW, Visitsuntorn N, Charoenratanakul S, Ruangrak S, Jirapongsananuruk O, Vichyanond P. Allergen sensitization to aeroallergens including *Blomia tropicalis* among adult and childhood asthmatics in Thailand. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2003;21:199-204.
  137. Puccio FA, Lynch NR, Noga O, Noda A, Hagel I, Lopez E, Lopez R, Caraballo L, Mercado D, DiPrisco MC. Importance of including *Blomia tropicalis* in the routine diagnosis of Venezuelan patients with persistent allergic symptoms. *Allergy.* 2004;59:753-7.
  138. Sastre J, Iraola V, Figueredo E, Tornero P, Fernandez-Caldas E. Mites in Madrid. *Allergy.* 2002;57:58-9.
  139. Garcia Robaina JC, Torre Morin F, Bonnet Moreno CG, Antolin Arias J, Perez Santos C, Sanchez Covisa A. House dust mites and Der p I in Tenerife (Canary Islands, Spain): the relative importance of other non *Dermatophagoides* spp mites. *Allergol Immunopathol (Madr).* 1996;24:135-8.
  140. Agratorres JM, Pereira-Lorenzo a, Fernández-Fernández I. Population dynamics of house dust mites in Santiago de Compostela (Galicia, Spain). *Acarologia* 1999; XL: 59-63



- 
141. Arias Irigoyen J, García del Hoyo JJ. Sensibilización cutánea e identificación de ácaros en las viviendas de una población de alérgicos en la provincia de Huelva. *Alergol Inmunol Clin* 2002; 17: 61-8
  142. Lázaro M, Igea JM. Ácaros en viviendas de Salamanca y Zamora. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 215-9.
  143. Iraola V, Carnés J, Fernández-Caldas, E. ¿Existen ácaros de almacén en los domicilios de nuestros pacientes? En: Ácaros de almacén: “Importancia Alergológica en Andalucía”. Sociedad Andaluza de Alergología e Inmunología Clínica, 2002, Barcelona, España.
  144. Blasco Sabio C, Gallego Berenguer J, Portus Vinyeta M. [Acarofauna of house dust in Barcelona and surrounding cities] *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1975;3:403-18.
  145. Fernández-Caldas E, Lafosse Marin S, Iraola V, Ochoa C. Allergenicity of the predator mite *Cheyletus eruditus*. *Allergy* (Abstract presented at the EAACI Amsterdam 2004).
  146. Gafvelin G, Johansson E, Lundin A, Smith AM, Chapman MD, Benjamin DC, Derewenda U, van Hage-Hamsten M. Cross-reactivity studies of a new group 2 allergen from the dust mite *Glycyphagus domesticus*, Gly d 2, and group 2 allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Lepidoglyphus destructor*, and *Tyrophagus putrescentiae* with recombinant allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 200;107:511-8.
  147. Korsgaard J, Hallas TE. Tarsonemid mites in Danish house dust. *Allergy*. 1979;34:225-32.
  148. Gotzsche PC, Johansen HK, Burr ML, Hammarquist C. House dust mite control measures for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;(3):CD001187. Review.
  149. Woodcock A, Forster L, Matthews E, Martin J, Letley L, Vickers M, Britton J, Strachan D, Howarth P, Altmann D, Frost C, Custovic A; Medical Research Council General Practice Research Framework. Control of exposure to mite allergen and allergen-impermeable bed covers for adults with asthma. *N Engl J Med* 2003;349:225-36.
  150. Morgan WJ, Crain EF, Gruchalla RS, O'Connor GT, Kattan M, Evans R 3rd, Stout J, Malindzak G, Smartt E, Plaut M, Walter M, Vaughn B, Mitchell H; Inner-City

- 
- Asthma Study Group. Results of a home-based environmental intervention among urban children with asthma. *N Engl J Med.* 2004;351:1068-80.
151. Fernández-Caldas E, Andrade J, Trudeau WL, Souza Lima E, Souza Lima I, Lockey RF. Serial determinations of Der p 1 and Der f 1 show predominance of one *Dermatophagoides* species. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1998;8:27-9.
152. Luczynska CM, Arruda LK, Platts-Mills TA, Miller JD, Lopez M, Chapman MD. A two-site monoclonal antibody ELISA for the quantification of the major *Dermatophagoides* spp. allergens, Der p I and Der f I. *J Immunol Methods.* 1989;118:227-35.
153. Sopelete MC, Silva DA, Arruda LK, Chapman MD, Taketomi EA. *Dermatophagoides farinae* (Der f 1) and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1) allergen exposure among subjects living in Uberlandia, Brazil. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;122:257-63.
154. Barnes KC, Fernández-Caldas E, Trudeau WL, Milne DE, Brenner RJ. Spatial and temporal distribution of house dust mite (Astigmata:Pyroglyphidae) allergens Der p 1 and Der f 1 in Barbadian homes. *J Med Entomol.* 1997;34:212-8.
155. Álvarez MJ, Olaguibel JM, Acero S, Quirce S, Garcia BE, Carrillo T, Cortes C, Tabar AI. Indoor allergens and dwelling characteristics in two cities in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1997;7:572-7.
156. Álvarez MJ, Olaguibel JM, Acero S, Garcia BE, Tabar AI, Urbiola E Effect of current exposure to Der p 1 on asthma symptoms, airway inflammation, and bronchial hyperresponsiveness in mite-allergic asthmatics. *Allergy.* 2000;55:185-90.
157. Echechipia S, Ventas P, Audicana M, Urrutia I, Gastaminza G, Polo F, Fernandez de Corres L. Quantitation of major allergens in dust samples from urban populations collected in different seasons in two climatic areas of the Basque region (Spain). *Allergy.* 1995;50:478-82.
158. Arruda LK, Rizzo MC, Chapman MD, Fernández-Caldas E, Baggio D, Platts-Mills TA, Naspitz CK. Exposure and sensitization to dust mite allergens among asthmatic children in Sao Paulo, Brazil. *Clin Exp Allergy.* 1991;21:433-9.
159. Fernández-Caldas E. Dust mite allergens: mitigation and control. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2002;2:424-31.

- 
160. Trakultivakorn M, Krudtong S. House dust mite allergen levels in Chiang Mai homes. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2004;2:1-6.
  161. Nelson RP Jr, DiNicolo R, Fernandez-Caldas E, Seleznick MJ, Lockey RF, Good RA. Allergen-specific IgE levels and mite allergen exposure in children with acute asthma first seen in an emergency department and in nonasthmatic control subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:258-63.
  162. Lau S, Falkenhorst G, Weber A, Werthmann I, Lind P, Buettner-Goetz P, Wahn U. High mite-allergen exposure increases the risk of sensitization in atopic children and young adults. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;84( Pt 1):718-25.
  163. Li CS, Hsu CW, Lin RH. House dust mite allergens (Der p I and Der p V) within domestic environments of atopic and control children. *Arch Environ Health.* 1997;52:208-12.
  164. Rizzo MC, Naspitz CK, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Mimica I, Sole D. Endotoxin exposure and symptoms in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 1997;8:121-6.
  165. Arlian LG, Bernstein D, Bernstein IL, Friedman S, Grant A, Lieberman P, Lopez M, Metzger J, Platts-Mills T, Schatz M, et al. Prevalence of dust mites in the homes of people with asthma living in eight different geographic areas of the United States. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;90( Pt 1):292-300.
  166. Rizzo MC, Fernández-Caldas E, Sole D, Naspitz CK. IgE antibodies to aeroallergens in allergic children in Sao Paulo, Brazil. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1997;7:242-8.
  167. Puerta L, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Caraballo LR. Mite allergy in the tropics: sensitization to six domestic mite species in Cartagena, Colombia. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1993;3:198-204.
  168. Damps I, Mincewicz G, Polawska K, Kurowski W, Stankiewicz C, Slominski JM. Nasal provocation tests with house dust mite in patients with perennial rhinitis. *Otolaryngol Pol.* 2003;57:69-74.
  169. Kanthawatana S, Maturim W, Fooanan S, Trakultivakorn M. Skin prick reaction and nasal provocation response in diagnosis of nasal allergy to the house dust mite. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997; 79:427-30.

- 
170. Niggemann B, Kleinau I, Schou C, Hansen GN, Wahn U. Discrepancies between in vitro and in vivo tests for house dust mite allergy: is domestic exposure a better predictor than sensitization? *Clin Exp Allergy*. 1994;24:946-8.
171. Marcucci F, Sensi L, Frati F, Bernardini R, Novembre E, Barbato A, Pecora S. Effects on inflammation parameters of a double-blind, placebo controlled one-year course of SLIT in children monosensitized to mites. *Allergy*. 2003;58:657-62.
172. Motta G, Passali D, De Vincentiis I, Ottaviani A, Maurizi M, Sartoris A, Pallestrini E, Motta S, Salzano FA. A multicenter trial of specific local nasal immunotherapy. *Laryngoscope*. 2000;110:132-9.
173. Ascione E, De Lucia A, Imperiali M, Varricchio A, Motta G. Nasal application of immunotherapy. *Chem Immunol Allergy*. 2003;82:89-98
174. Cengizlier R, Saraclar Y, Tomac N. Evaluation of immunotherapy by nasal antigen challenge. *J Otolaryngol*. 1999;28:185-8.
175. Terho EO, Husman K, Vohlonen I, Rautalahti M, Tukiainen H. Allergy to storage mites or cow dander as a cause of rhinitis among Finnish dairy farmers. *Allergy*. 1985;40:23-6.
176. Armentia A, Tapias J, Barber D, Martin J, de la Fuente R, Sanchez P, Salcedo G, Carreira J. Sensitization to the storage mite *Lepidoglyphus destructor* in wheat flour respiratory allergy. *Ann Allergy* 1992;68:398-403.
177. van Hage-Hamsten M, Ihre E, Zetterstrom O, Johansson SG. Bronchial provocation studies in farmers with positive RAST to the storage mite *Lepidoglyphus destructor*. *Allergy*. 1988;43:545-51.
178. Alvarez MJ, Castillo R, Rey A, Ortega N, Blanco C, Carrillo T. Occupational asthma in a grain worker due to *Lepidoglyphus destructor*, assessed by bronchial provocation test and induced sputum. *Allergy*. 1999;54:884-9.
179. Armentia A, Martinez A, Castrodeza R, Martínez J, Jimeno A, Mendez J, Stolle R. Occupational allergic disease in cereal workers by stored grain pests. *J Asthma*. 1997;34:369-78.
180. Garces Sotillos M, Blanco Carmona J, Juste Picon S. Late asthma caused by inhalation of *Lepidoglyphus destructor*. *Ann Allergy* 1991;67(Pt 1):126-8.

- 
181. Lelong M, Henard J, Duprey J, Miersman R, Thelliez P, Sawadogo A. [Role of rhinomanometry in childhood mite allergy apropos of 76 cases] *Allerg Immunol (Paris)*. 1986;18:5, 7-8.
  182. Armentia A, Martínez A, Castrodeza R, Martínez J, Jimeno A, Méndez J, Stolle R. Occupational allergic disease in cereal workers by stored grain pests. *J Asthma* 1997; 34: 369-79.
  183. Korsgaard J, Dahl R, Iversen M, Hallas T. Storage mites as a cause of bronchial asthma in Denmark. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1985; 13:143-9.
  184. Stanaland BE, Fernández-Caldas E, Jacinto CM, Trudeau WL, Lockett RF. Positive nasal challenge responses to *Blomia tropicalis*. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97: 1045-9.
  185. Barreto BA, Daher S, Naspitz CK, Sole D. Specific and non-specific nasal provocation tests in children with perennial allergic rhinitis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2001;29:255-63.
  186. Wang DY, Goh DY, Ho AK, Chew FT, Yeoh KH, Lee BW. The upper and lower airway responses to nasal challenge with house-dust mite *Blomia tropicalis*. *Allergy*. 2003;58:78-82.
  187. Garcia-Robaina JC, Eraso E, Martinez J, Martínez A, de la Torre Morín F, Hernandez-Nieto L, Pineda-Algorta J, Guisantes J. Sensitization to *Blomia kulagini* in a general population of a subtropical region of Spain (Canary Islands). *Allergy*. 1997;52:727-31.