



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



SÉRIE « POLLUTION DE L'AIR INTÉRIEUR »
Coordonnée par Frédéric de Blay

Les acariens domestiques et leurs allergènes

House dust mites allergens

J.-C. Bessot^a, G. Pauli^{b,*}

^a Ariale, bâtiment ancienne ophtalmologie, hôpital Civil, 1, place de l'Hôpital, BP 426, 67091 Strasbourg cedex, France

^b Université de strasbourg, bâtiment ancienne ophtalmologie, hôpital Civil, 1, place de l'Hôpital, BP 426, 67091 Strasbourg cedex, France

Reçu le 27 mai 2010 ; accepté le 1^{er} septembre 2010

Disponible sur Internet le 24 mars 2011

MOTS CLÉS

Allergènes ;
Allergènes croissants ;
Acariens
Pyroglyphides ;
Acariens de
stockage ;
Blomia tropicalis

Résumé

Introduction. — Les acariens de la famille des *Pyroglyphidae* sont la plus importante source des allergènes des acariens. Depuis 1988, leurs connaissances moléculaires se sont considérablement enrichies, leurs structures et leurs fonctions ont pu être précisées pour la majorité d'entre eux.

État des connaissances. — Vingt-deux allergènes ont été identifiés. Les groupes 1 et 2 ont une homologie de séquence en AA de 85 % et sont des allergènes majeurs. Les groupes 4, 5, 7, 11, 14 et 15 sont également des groupes importants. La liaison aux IgE des groupes 3, 8, 10, 20 est faible. Les groupes 1, 2, 3 ont un polymorphisme élevé. Nombre d'allergènes ont une fonction biochimique : cystéine protéases pour les allergènes du groupe 1 par exemple. Der p 2 a une homologie de structure et de fonction avec MD-2, corécepteur du récepteur TLR4, dont les LPS sont le ligand. Des réactions croisées ont été mises en évidence : majeures au sein d'une même famille, plus faibles entre allergènes de familles différentes.

Conclusion. — Les applications pratiques sont soulignées : explications des cosensibilisations, intérêt de l'épidémiologie moléculaire, permettant le choix des allergènes à utiliser pour le diagnostic, enfin utilisation future dans les désensibilisations spécifiques.

© 2011 SPLF. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : Gabrielle.Pauli@chru-strasbourg.fr (G. Pauli).

KEYWORDS

House dust mites;
Allergens;
Cross-reactive
allergens;
Pyroglyphidae
allergens;
Storage mite
allergens;
Blomia tropicalis
allergens

Summary

Introduction. — House dust mite allergens from the *Pyroglyphidae* family are one of the most frequent and potent causes of allergic sensitisation. Since 1988, molecular knowledge has increased considerably and structures and functions have been determined for most of them.

Background. — Of the 22 defined allergens, the major IgE-binding has been reported for groups 1 and 2 accounting for 40–60% of the anti-house dust mite titres. Der p 1, 2, 4, 5, 7 allergens account for about 80% of the IgE-response. Der p 4, 5, 7, 11, 14, 15 have a prevalence of sensitization of about 10% each. The IgE-binding to groups 3, 8, 10, 20 is low. Most of the allergens can be identified by amino-acid sequences and the tertiary structures of the major allergens have been solved. Most allergens are proteolytic enzymes: Der p1 for instance is a cysteine protease. Der p 2 has structural homology with MD-2, a co-receptor of the Toll-like receptor (TLR4) whose ligand is LPS. Knowledge of the structure of mite allergens has allowed better interpretation of cross-reactions between allergens from the same family or from more distant families.

Conclusions. — From a practical point of view: the occurrence of multisensitisation is better explained and molecular epidemiology has allowed a better choice of allergen molecules useful for diagnosis. Finally, new concepts of immunotherapy based on genetically engineered hypoallergenic variants of major allergens, used alone or in combination, may lead to useful therapeutic approach.

© 2011 SPLF. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

L'apport de la biologie moléculaire et de l'immunogénétique au cours de ces 25 dernières années a été capital pour la connaissance de la structure et des fonctions des allergènes. La majorité des allergènes des acariens ayant une importance clinique ont vu leurs activités biologiques élucidées. Grâce aux banques de données, des associations entre des séquences d'allergènes et des protéines connues pour leur activité biologique ont pu être mises en évidence. Outre les séquences en acides aminés et la structure tridimensionnelle, les épitopes T ont pu être déterminés pour nombre d'allergènes. La commission de la nomenclature de l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS) a proposé d'uniformiser la dénomination des allergènes en utilisant les trois premières lettres du genre de la source d'allergènes (Der pour *Dermatophagoïdes* par exemple), la première ou la deuxième lettre de l'espèce (exemple p pour *pteronysinus*), enfin un nombre arabe reflétant soit l'ordre dans lequel l'allergène a été découvert, soit son importance clinique, soit les deux. Les allergènes qui ont des homologies importantes sont phylogénétiquement très proches et ont une même fonction biochimique, ont été regroupés en différents groupes. C'est ainsi que les allergènes des acariens, tels que *Dermatophagoïdes pteronyssinus*, *Dermatophagoïdes farinae*, *Euroglyphus maynei*, sont appelés individuellement Der p 1, Der f 1, Eur m 1 et collectivement ont été rattachés au groupe 1 des allergènes des acariens. Les allergènes recombinés sont précédés de la lettre r, les allergènes naturels de la lettre n. Si des iso-allergènes ont été identifiés (allergènes ayant au moins 67% d'identité de séquence des acides aminés), un suffixe allant de 01 à 99 est utilisé. Les iso-allergènes de Der p 1 seront ainsi nommés Der p 1.01, Der p 1.02, etc. Le terme d'isoformes ou variants s'applique à des variants polymorphiques du même allergène ayant une identité de séquence d'au moins 90%. Ils

sont désignés par deux nombres supplémentaires par rapport aux iso-allergènes, soit pour Der p 1 qui en compte 23 : Der p 1.0101 à Der p 1.0123 [1,2].

- La nomenclature des allergènes utilise les trois premières lettres du genre de la source d'allergènes (Der pour *Dermatophagoïdes* par exemple), la première ou la deuxième lettre de l'espèce (exemple p pour *pteronysinus*), puis un nombre arabe reflétant soit l'ordre dans lequel l'allergène a été découvert, soit son importance clinique, soit les deux.
- On a regroupé en différents groupes les allergènes qui ont des homologies importantes, qui sont phylogénétiquement très proches et ont une même fonction biochimique.
- Les allergènes recombinés sont précédés de la lettre r, les allergènes naturels de la lettre n.
- S'il existe des iso-allergènes (allergènes ayant au moins 67% d'identité de séquence des acides aminés), on utilise un suffixe allant de 01 à 99.
- Le terme d'isoformes ou variants s'applique à des variants polymorphiques du même allergène ayant une identité de séquence d'au moins 90%. Ils sont désignés par deux nombres supplémentaires.

Allergènes des acariens

Comme la plupart des allergènes, les allergènes des acariens ont une masse moléculaire variant de 11 à 190 kDa. Ils constituent un système multi-allergénique de protéines ou de glycoprotéines. Vingt-deux allergènes différents, identifiés

à partir des acariens *Pyroglyphides*, des acariens de stockage et de *Blomia tropicalis*, ont reçu « l'Imprimatur » de l'IUIS [3,4]. L'inventaire des allergènes des acariens n'est probablement pas terminé. Par des techniques de séparation des allergènes telles que l'immuno-empreinte, de nombreuses bandes protéiques se liant aux IgE des patients allergiques aux acariens, ont été mises en évidence mais n'ont pas ou pas encore été enregistrées par l'IUIS. De plus, d'autres allergènes jusqu'alors non reconnus ont été identifiés, tel est le cas des homologues des groupes 5 et 21 appartenant à *Tyrophagus putrescentiae*, à *Suidasia medanensis*, à *Aleroglyphus ovatus* à Singapour [5]. Gao et al. [6] ont identifié un nouvel allergène majeur de *B. tropicalis*, Blo t 21, qui est vraisemblablement un paralogue de Blo t 5. Enfin, certains allergènes sont glycosylés : ceux du groupe 1 sauf Blo t 1, ceux des groupes 4 et 7 sauf Lep d 7, ceux des groupes 11 et 15, ainsi que Der f 18. Cette glycosylation, bien qu'elle soit mal connue, pourrait être à l'origine d'une IgE-réactivité glucidique [7].

Provenance des allergènes des acariens

Les principales sources des allergènes des acariens sont les particules fécales qui s'accumulent dans la poussière domestique, les sécrétions salivaires, les débris de corps entier, les débris de cuticule, les débris cellulaires.

Les allergènes des différentes espèces d'acariens sont soit des enzymes, soit des protéines de liaison à l'actine, aux acides gras, au calcium, soit des protéines de fonction inconnue. La majorité des allergènes des acariens *Pyroglyphides* constitue selon l'expression de Thomas un véritable « catalogue » d'enzymes : cystéine-protéases, trypsines et chymotrypsines, amylases, collagénases, chitinases... Les enzymes digestives protéolytiques sont secrétées par les cellules bordantes de l'intestin moyen [8,9] ; elles sont nécessaires à la dégradation et à la digestion des squames humaines et des aliments protéiques. Ces allergènes, de même que les aliments partiellement digérés, se retrouvent dans les fèces des acariens. Les observations de Tovey et al. [10] ont montré que des acariens bien nourris excrétaient entre 20 et 40 particules par jour, chacune contenant des taux de Der p 1 variant de 0,1 ng à 10 ng. Quatre-vingt-dix pour cent des allergènes du groupe 1 proviennent des particules fécales. Ces particules fécales sont entourées par une membrane péritrophique chitineuse qui les empêche de se désagréger tout en permettant une élution rapide des allergènes. Les particules fécales peuvent s'accumuler dans la poussière. Il y a encore une vie pour les allergènes après la mort des acariens : les acariens morts, les œufs, les larves sont aussi des sources d'allergènes. Les allergènes majeurs Der p 1 et Der f 1 sont détruits par une température de 60 °C, contrairement aux allergènes du groupe 2, protéines thermorésistantes qui ne s'altèrent pas à des températures de 100 °C [3,4]. Kort et Kniest [11] ont montré qu'après l'extermination des acariens les textiles restaient des réservoirs d'allergènes et qu'après 47 mois l'activité de Der p 1 restait inchangée. La taille des particules portant les allergènes du groupe 1 des *Pyroglyphides* est grande, le plus souvent d'un diamètre aérodynamique égal ou supérieur à 10 µm. Ces particules qui sont lourdes ne sont mesurables qu'au cours d'activités ménagères (réfection du lit, passage de l'aspirateur...), mettant en suspension la poussière

[12,13], elles retombent également rapidement. En ce qui concerne les particules de 20 µm de diamètre, 5 à 10 % seulement peuvent pénétrer dans les voies respiratoires au cours d'une respiration buccale normale [12]. De Lucca et al. [14] ont montré que les allergènes du groupe 1 n'étaient pas seulement présents sur des particules fécales mais pouvaient provenir des sécrétions salivaires et être portés par des particules d'un diamètre aérodynamique de l'ordre de 5 µm. Par ailleurs, Casset et al. [15] ont montré par des tests d'inhalation que les particules de Der p 1 d'un diamètre aérodynamique supérieur à 10 µm jouaient un rôle important dans la réponse bronchique immédiate et que la PD20, lorsqu'on faisait inhaler de grandes particules, nécessitait des doses de Der p 1 moindres que lorsque la PD20 était mesurée après l'inhalation de petites particules d'un diamètre aérodynamique de 5,6 µm.

Allergènes du groupe 1 des acariens *Pyroglyphides*

Les allergènes du groupe 1 font partie des cystéines protéases, c'est-à-dire des enzymes « papaine-like » de la même famille que les papaines végétales et la L-cathepsine [16]. Der p 1 a une masse moléculaire de 25 kDa, sa structure primaire comporte 222 acides aminés. La structure tertiaire de Der p 1 a pu aussi être déterminée [17]. La première partie de la molécule est composée de trois hélices α alors que la seconde est constituée de cinq brins β. Le centre actif est localisé dans la crevasse qui sépare les deux domaines. La principale différence avec la papaine est la présence de deux cystéines (Cys 4 et Cys 117). La papaine et la caricaine de la papaye, l'ananaïne et la broméline de l'ananas, l'actinidine du kiwi, ont des structures tertiaires très voisines des allergènes du groupe 1. Néanmoins, les homologies de séquence en acides aminés sont peu importantes, de 25 à 43,3 % entre différentes papaines et Der p 1. Cela explique qu'il n'y ait pas de réactivités croisées cliniquement significatives entre Der p 1, Der f 1 et les papaines végétales. Parmi les allergènes de *Dermatophagoïdes*, Der p 1 a été le premier allergène cloné [18]. Il s'agit d'un allergène majeur : 50 à 70 % des IgE spécifiques des patients allergiques à un extrait global de Dpt (*D. pteronyssinus*) ou de Df (*D. farinae*) se lient à Der p 1. Néanmoins, ces pourcentages peuvent varier considérablement d'une population à l'autre et il est rarement précisé dans quelle population ils ont été mis en évidence. L'identité de séquence des acides aminés d'une même famille est très proche. Der p 1 et Der f 1 ont une identité de séquence de 85 %. Entre Eur m 1 et Der p 1, l'homologie est de l'ordre de 80 % [19]. Les régions de disparité sont concentrées au niveau des 20 résidus N-terminaux et au niveau des résidus 80–130 présents dans la région centrale [20], dans une partie de la boucle reliant les domaines droits et gauches.

Tous les allergènes du groupe 1 présentent un site de N-glycosylation au niveau des résidus 53–55, ce qui est en accord avec la présence d'hydrates de carbone dans l'extrait naturel purifié. Cela explique également les difficultés initiales d'obtention de l'allergène recombiné rDer p 1 lorsqu'on utilisait des systèmes d'expression bactériens. Il existe dans des conditions physiologiques une structure non glycosylée se présentant sous forme d'un dimère de

40 kDa [3,4]. Une autre caractéristique de Der p 1 est son haut degré de polymorphisme, en rapport avec l'allélisme d'un gène unique codant Der p 1. Vingt-trois variants ont ainsi été mis en évidence de Der p 1.0101 à Der p 1.0123. Les séquences les plus représentatives sont Der p 1.0102 et Der p 1.0105. Comparé à Der p 1, le polymorphisme de Der f 1 est plus faible, ce qui suggère que le polymorphisme ne joue pas un rôle capital dans l'allergénicité [4]. L'étude des épitopes T montre qu'ils sont présents au niveau de la boucle centrale. Der p 1 et Der f 1 sont abondants et fréquemment retrouvés à des taux élevés dans les poussières domestiques.

En ce qui concerne les acariens de stockage, il ne semble pas qu'ils possèdent des allergènes protéasiques, ils ne font donc pas partie du groupe 1. Certes, un allergène de *B. tropicalis*, Blot 1, a été enregistré par l'IUIS, il n'a cependant qu'une homologie de 35 % avec les autres allergènes du groupe 1 des *Dermatophagoides*.

- L'inventaire complet des allergènes des acariens est encore en cours.
- Les principales sources des allergènes des acariens sont leurs particules fécales qui s'accumulent dans la poussière domestique, leurs sécrétions salivaires et leurs débris (de corps entier, de cuticule et cellulaires).
- Les allergènes d'acariens sont soit des enzymes, soit des protéines de liaison, soit des protéines de fonction inconnue.
- 90 % des allergènes du groupe 1 proviennent des particules fécales, mais aussi des sécrétions salivaires.
- Les allergènes majeurs Der p 1 et Der f 1 sont détruits à la température de 60 °C, alors que les allergènes du groupe 2, protéines thermorésistantes, résistent à des températures de 100 °C.
- 47 mois après extermination des acariens, l'activité de Der p 1 reste inchangée.
- Les allergènes du groupe 1 font partie des cystéines protéases.
- Ils font partie de la même famille que les papaines végétales et la L-cathepsine, mais il n'y a pas de réactivité croisée cliniquement significative entre Der p 1, Der f 1 et les papaines végétales (faible homologie de séquence en acides aminés).
- Der p 1 est un allergène majeur, fixant 50 à 70 % des IgE spécifiques des patients allergiques à un extrait global de *D. pteronyssinus* ou de *D. farinae*.
- L'identité de séquence des acides aminés d'une même famille est très proche.
- Tous les allergènes du groupe 1 présentent un site de N-glycosylation au niveau des résidus 53–55 et il existe dans des conditions physiologiques une structure non glycosylée se présentant sous forme d'un dimère de 40 kDa.
- Le polymorphisme de Der p 1 est important.
- Les acariens de stockage ne possèdent pas d'allergènes protéasiques et ne font donc pas partie du groupe 1.

Fonction des allergènes du groupe 1

Le rôle éventuel de l'activité enzymatique des allergènes du groupe 1 dans l'allergénicité des acariens a fait l'objet de multiples travaux depuis 1995 [21], de nombreuses publications, de revues générales [22–24]. L'activité enzymatique de Der p 1 est liée à sa fonction protéasique. La fonction de sérine-estérase qui lui avait été également attribuée n'a pas été confirmée. Des souris à qui l'on injecte du Der p 1 enzymatiquement actif, produisent plus d'IgE que les souris à qui l'on injecte du Der p 1 inactivé. Cette constatation a été à l'origine de nombreux travaux concernant la fonction des allergènes du groupe 1.

Action sur la perméabilité de l'épithélium bronchique et les jonctions serrées

L'allergène Der p 1 est capable de modifier la perméabilité de la barrière épithéliale bronchique en engendrant une augmentation du passage de marqueurs protidiques à travers une monocouche de cellules épithéliales bronchiques en culture [21]. Der p 1 peut cliver le domaine extracellulaire de l'occludine et des claudines qui, associées aux protéines intracellulaires zona occludens (ZO), constituent un assemblage macromoléculaire protidique régulant la perméabilité paracellulaire, les jonctions serrées (Fig. 1). L'action des protéases de Der p 1 a pu être démontrée par extrapolation pour des concentrations estimées proches de l'exposition journalière aux allergènes d'acariens [25,26]. L'inhibition de l'activité protéasique de Der p 1 (par E-64 par exemple) diminue le passage transépithélial d'albumine bovine sérique marquée (¹⁴C-BSA) [27]. Ainsi, l'augmentation de la perméabilité transépithéliale résultant de la rupture des jonctions serrées favorise la traversée des allergènes et facilite l'accessibilité aux cellules dendritiques, plaçant ainsi l'épithélium bronchique dans un rôle pivot de la physiopathologie de l'asthme [28].

Action sur les cellules épithéliales bronchiques en culture

Der p 1 induit la libération de médiateurs pro-inflammatoires : IL6, IL8, Eotaxine et GM-CSF (granulocyte/macrophage-colony stimulating factor) [29,30]. Der p 1 majore également la production des récepteurs des chimiokines, de la famille CC et CXC : CCL2, CCL5 (RANTES), CCL20 et CXCL10 [31,32]. Cet environnement des chimiokines entraîne, in vitro, un recrutement de cellules dendritiques [33], qui n'est pas observé en présence de E64 ou de pro-Der p 1 (pro-enzyme sans activité protéasique) [33]. Les activités pro-inflammatoires des allergènes protéasiques avaient été attribuées à l'activation des PAR (protease-activated receptors) et plus spécifiquement à ceux du type 2. En effet, PAR-2 est surexprimé au niveau de l'épithélium respiratoire des patients asthmatiques [34]. Par ailleurs, chez la souris, PAR-2 est impliqué dans l'infiltration éosinophilique et l'hyper-réactivité bronchique [35]. Chez les souris déficientes en PAR-2, l'inflammation éosinophile est abrogée [36].

In vitro, sur des lignées épithéliales bronchiques, les premiers travaux avaient révélé que les allergènes d'acariens étaient capables d'induire une réponse inflammatoire en stimulant directement la libération de cytokines pro-inflammatoires par la voie d'activation de PAR-2 [37]. Par la suite, il a été montré que des extraits bruts d'acariens

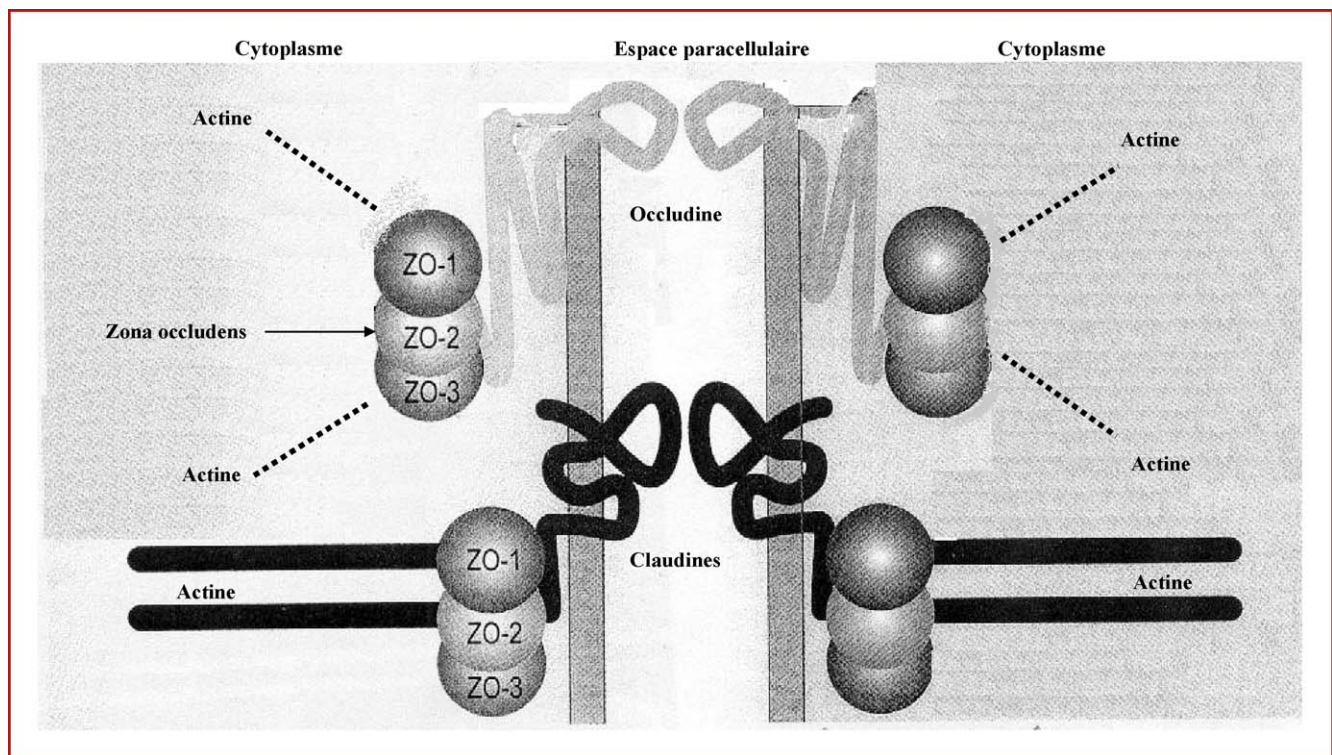


Figure 1. Représentation simplifiée et modifiée des jonctions serrées d'après Stewart et al. : *The structure and function of allergens* [54].

activaient les facteurs de transcription ERK1/2, MAPK dans les cellules épithéliales bronchiques [38]. De la même façon, l'implication de l'activité de ERK1/2 et de NF-kappaB a été démontrée dans la production d'IL-8 de cellules épithéliales induite par Der p 1. Or, la réponse médiée par ERK1/2 est indépendante de l'activation des PAR-2 [39], ce qui remet en cause l'activation des PAR-2.

Action sur les mastocytes et des basophiles

Indépendamment d'une sensibilisation IgE-dépendante, et par une stimulation directe des mastocytes et des basophiles, Der p 1 provoque une sécrétion d'IL4 [40].

Action sur les éosinophiles

L'allergène Der f 1 induit la production d'anion superoxyde par les éosinophiles d'origine humaine ainsi que leur dégranulation, entraînant la libération notamment d'EDN (eosinophil derived neurotoxin) [41]. Ces effets dépendent de l'activité cystéine protéase de Der f 1 puisqu'ils sont absents lorsque l'activité enzymatique est inhibée par l'E-64.

Action sur les cellules musculaires lisses bronchiques

Der p 1 est susceptible d'agir directement au niveau des cellules musculaires lisses bronchiques de lapin, en majorant la contraction induite par l'acétylcholine et en diminuant la réversibilité sous l'effet de l'isoprotérénol [42].

Action sur les lymphocytes B et T

Les observations in vitro ont conduit à proposer que l'allergène Der p 1, par le clivage spécifique à la surface des lymphocytes B humains du CD23, récepteur de faible affinité des IgE, pouvait majorer la production d'IgE [43–45]. En effet, le CD23 et ses fragments solubles pos-

sèdent une activité immunorégulatrice de la synthèse d'IgE. Le clivage du CD23 provoquerait la suppression d'un mécanisme de régulation négative et l'activation de la production de CD23 soluble. Cependant, ce mécanisme n'a pas été confirmé par les études in vivo [46].

De plus, Der p 1 peut cliver la sous-unité α du récepteur de l'IL-2 (IL-2R ou CD25), présent à la surface des lymphocytes T humains, ce qui provoque une diminution de la sécrétion d'INF- γ . L'IL-2R est essentiel pour la prolifération des cellules Th1, son clivage par Der p 1 pourrait orienter la réponse immunitaire vers un profil Th2 [47]. In vivo, dans un modèle murin, l'administration de Der p 1 renforce la réponse Th2 [48]. Enfin, Der p 1 est également capable de cliver le CD40, entraînant une diminution de la production d'IL-12 par les cellules dendritiques [49]. L'IL-12 joue un rôle majeur dans l'orientation des cellules T vers un profil Th1. De plus, les cellules dendritiques dérivées des monocytes de patients allergiques à *D. pteronyssinus*, produisent en présence de Der p 1 plus de cytokines (IL-6, IL-10), des chimiokines (CCL-17, CCL-22), et moins d'IL-12, que les cellules dendritiques de donneurs non allergiques [50].

Actions de Der p 1

L'alpha1-antitrypsine qui protège les voies bronchiques des lésions inflammatoires produites notamment par les sérine-protéases est inactivée par Der p 1. L'alpha1-antitrypsine est clivée dans sa partie centrale et près de son extrémité NH2 [51]. Cette action est d'autant plus significative qu'elle est susceptible de potentialiser le rôle des allergènes possédant une activité sérine-protéase, tels que Der p 3 et Der p 9. De plus, Der p 1 inactive les inhibiteurs d'élastase [52],

ce qui peut aggraver les dommages tissulaires engendrés par l'activation des polynucléaires neutrophiles. Enfin, Der p 1 dégrade également les protéines A et D du surfactant pulmonaire [53], qui ont une action protectrice vis-à-vis de l'inflammation bronchique allergique.

Augmentation de la perméabilité bronchique, production de médiateurs inflammatoires, de cytokines et de chimiokines à action pro-inflammatoire, orientation de la réponse immunitaire vers un profil Th2, augmentation de la synthèse des IgE, des actions multiples ont donc été attribuées à Der p 1. Ces actions n'ont cependant qu'un rôle adjuvant, facilitateur de la réaction IgE-dépendante. Les effets observés l'ont été essentiellement chez l'animal, en particulier chez la souris ou sur des cultures cellulaires, avec des taux de Der p 1 qui n'étaient probablement pas toujours réalistes. Par ailleurs, les allergènes à fonction enzymatique ne représentent que 40% de l'ensemble des allergènes. De nombreux allergènes n'ont pas de fonction enzymatique ; ainsi en est-il pour Der p 2 et Der f 2, autres allergènes majeurs des *Dermatophagoides*. Certains allergènes comme Bla g 2 sont même des inhibiteurs d'enzymes. Il ne semble pas que ce soit la fonction enzymatique qui soit responsable de l'allergénicité des allergènes du groupe 1, ce n'est pas elle qui fait qu'un allergène est un allergène [4]. Néanmoins, le regroupement par familles permet de catégoriser les allergènes dans une autre classification que la classification traditionnelle ; elle permet également de mieux comprendre les liens qui rassemblent différents allergènes malgré leur apparente diversité [54].

- L'activité enzymatique de Der p 1 est liée à sa fonction protéasique.
- L'allergène Der p 1 modifie la perméabilité de la barrière épithéliale bronchique.
- Der p 1 induit la libération de médiateurs pro-inflammatoires : IL6, IL8, Eotaxine et GM-CSF et majore la production des récepteurs des chimiokines, de la famille CC et CXC.
- Par une stimulation directe des mastocytes et des basophiles, Der p 1 provoque une sécrétion d'IL4.
- L'allergène Der f 1 induit la production d'anion superoxyde par les éosinophiles d'origine humaine ainsi que leur dégranulation, entraînant la libération d'EDN (eosinophil derived neurotoxin).
- Der p 1 majore la contraction des cellules musculaires lisses bronchiques de lapin induite par l'acétylcholine et diminue la réversibilité sous l'effet de l'isoprotérénol.
- Der p 1 majorerait la production d'IgE mais cela reste à confirmer in vivo.
- Der p 1 clive la sous-unité α du récepteur de l'IL-2 (IL-2R ou CD25), présent à la surface des lymphocytes T humains, ce qui diminue la sécrétion d'INF- γ .
- Der p 1 renforce la réponse Th2 et clive le CD40, réduisant la production d'IL-12 par les cellules dendritiques.
- Der p 1 inactive l'alpha1-antitrypsine et les inhibiteurs d'élastase.

Allergènes du groupe 2

Les allergènes du groupe 2 sont des allergènes d'une masse moléculaire de 14 à 18 kDa, se liant fortement aux IgE [55]. Der p 2 et Der f 2 n'ont que 12% de divergence dans leur séquence en acides aminés ; ils ne sont pas glycosylés. Eur m 2 [56] a une identité de séquence en acides aminés de 82%, à la fois avec Der p 2 et Der f 2. Les allergènes du groupe 2 comme ceux du groupe 1 sont des allergènes majeurs. Ces allergènes sont thermorésistants et ne s'altèrent pas jusqu'à des températures de 100°C. Ils se retrouvent essentiellement au niveau des fèces des acariens, mais aussi au niveau de la cuticule. D'après l'étude de O'Hehir et al. [57], les régions de Der p 2 les plus fréquemment reconnues par les épitopes T sont présentes au niveau des AA 61–86 et 78–104. Les allergènes du groupe 2 sont produits par des gènes uniques. De nombreux variants ont été décrits, Der p 2.0101 et Der p 2.0104 notamment. Ces variants sont représentatifs des variants de l'allergène naturel Der p 2. Der p 2, en raison de son absence de glycosylation a pu être obtenu rapidement sous forme recombinée [58], le polypeptide recombiné ayant toute la réactivité de l'allergène naturel. La cristallographie effectuée pour Der p2 et Der f 2 a mis en évidence une simple immunoglobuline repliée, entourant une cavité hydrophobe [59]. Les prolines 66, 95 et 99 forment une entrée rigide à la cavité hydrophobe. Pendant longtemps, la fonction des allergènes du groupe 2 est restée hypothétique, jusqu'à ce que l'on découvre que son architecture était retrouvée dans des protéines ayant un domaine ML de liaison aux lipides, incluant notamment les protéines de type C2 de la maladie de Niemann-Pick, résultant d'un déficit des transporteurs de lipides. Le travail de Trompette et al. [60], paru en 2009 dans Nature, a apporté des précisions majeures concernant la fonction de Der p2, et a ouvert la voie aux fonctions d'autres allergènes de ce type. Der p 2 a une homologie de structure avec MD-2, qui appartient également à la superfamille des protéines présentant un domaine ML de liaison aux lipides. MD-2 se lie aux LPS et active la voie de signalisation du *toll-like receptor 4* (TLR4) en se liant à l'ectodomain du récepteur [61,62]. Cette étude a montré que Der p 2, comme MD-2, est capable in vitro de se lier aux LPS, au TLR4, à MD-2 et au CD14 suggérant que Der p 2 facilite l'agrégation de TLR4 nécessaire à son activation. Dans un modèle murin, la sensibilisation par voie intranasale suivie d'un test de provocation avec Der p 2 recombinant en présence d'une faible quantité de LPS, conduit à un asthme allergique expérimental avec inflammation de type Th2 chez des souris déficientes en MD-2, tandis que cette réponse était absente chez des souris déficientes en TLR4 [60]. En facilitant la signalisation par TLR4, Der p 2 pourrait jouer un rôle auto-adjuvant dans le développement de réponses immunologiques adaptatives. En effet, Hammad et al. [63] ont montré que TLR4 était exprimé majoritairement sur les cellules épithéliales pulmonaires, leur activation entraînant la sécrétion de chémokines et de chimiokines impliquées dans le recrutement et la maturation des cellules dendritiques. Comme pour Der p 2, il a été montré que Der f 2 était également capable de se lier aux LPS. Le fait que d'autres membres de la famille à laquelle appartient MD-2, présentant un domaine de liaison aux lipides, soient des aéro-allergènes, suggère que

l'activité adjuvante intrinsèque de telles protéines pourrait présenter un mécanisme sous-tendant l'allergénicité [64].

Allergènes du groupe 2 des acariens de stockage

Certains allergènes du groupe 2 ont été décrits comme des allergènes majeurs parmi les acariens de stockage : Lep d 2 anciennement Lep d 1 (*Lepidoglyphus destructor*), Gly d 2 (*Glycyphagus domesticus*), Tyr p 2 (*T. putrescentiae*). Les homologies entre ces allergènes et ceux des *Dermatophagoides* du groupe 2 sont variables et peu importantes : Lep d 2 et Der p 2 : 36 %, Tyr p 2 et Der p 2 : 41 %, alors que les homologies de structure des allergènes du groupe 2 des acariens de stockage sont de l'ordre de 80 %.

- Les allergènes du groupe 2 sont des allergènes d'une masse moléculaire de 14 à 18 kDa, se liant fortement aux IgE.
- La séquence en acides aminés de ces allergènes est peu divergente.
- Ils résistent à des températures de 100 °C.
- Les allergènes du groupe 2 sont produits par des gènes uniques comportant de nombreux variants.
- Der p 2 a une homologie de structure avec MD-2, qui appartient également à la superfamille des protéines présentant un domaine ML de liaison aux lipides.
- Der p 2, comme MD-2, se lie in vitro aux LPS, au TLR4, à MD-2 et au CD14, suggérant que Der p 2 facilite l'agrégation de TLR4 nécessaire à son activation.
- TLR4 est exprimé majoritairement sur les cellules épithéliales pulmonaires, leur activation entraînant la sécrétion de chémokines et de chimiokines impliquées dans le recrutement et la maturation des cellules dendritiques.
- Der f 2, comme Der p 2, peut se lier aux LPS.
- Certains allergènes du groupe 2 sont des allergènes majeurs parmi les acariens de stockage mais ils n'ont que peu d'homologie avec les allergènes du groupe 2 des *Dermatophagoides*.

Allergènes du groupe 3 (à fonction trypsine-like)

Les allergènes du groupe 3 ont un poids moléculaire de 30 kDa. Der p 3 et Der f 3 sont des sérine-protéases de type trypsine [65,66].

Le séquençage a montré que Der p 3 avait 233 résidus et une masse moléculaire de 25 kDa. Der f 3 et Der p 3 ont 81 % d'identité de séquence. Ce sont des constituants majeurs des particules fécales des acariens, mais ils sont aussi présents à faible concentration dans les corps des acariens. Il est également possible qu'ils puissent être dégradés.

Eur m 3 a 80 % d'identité avec Der p 3 et Der f 3, et 75 % des résidus sont les mêmes pour les trois molécules. Comme pour Der p 1 il a été proposé que l'activité protéolytique puisse avoir quelque effet sur l'allergénicité. À partir du clivage du complément, les allergènes du groupe 3 produisent des anaphylatoxines C3a et C5a. Sur les cel-

lules épithéliales, Der p 3 et Der p 9 peuvent provoquer la formation de cytokines pro-inflammatoires GM-CSF et éotaxine par activation de PAR-2 (Protease activated receptor 2) sur des cellules épithéliales bronchiques [67]. De plus, les allergènes caractérisés par une activité sérine protéase (Der p 3, 6 et 9), présents dans les particules fécales tout comme Der p 1, peuvent également augmenter la perméabilité de l'épithélium bronchique, par rupture des jonctions serrées en agissant sur d'autres sites de clivage que Der p 1 [25]. La concentration de ces allergènes dans l'environnement n'est pas connue. Leur liaison aux IgE est faible et ils ne constituent pas des allergènes importants.

- Les allergènes du groupe 3 ont un poids moléculaire de 30 kDa et sont des constituants majeurs des particules fécales des acariens.
- Der p 3 et Der f 3 sont des sérine-protéases de type trypsine.
- À partir du clivage du complément, les allergènes du groupe 3 produisent des anaphylatoxines C3a et C5a.
- Ces allergènes dotés d'une activité sérine protéase (Der p 3, 6 et 9), peuvent augmenter la perméabilité de l'épithélium bronchique, par rupture des jonctions serrées.

Allergènes du groupe 4 (amylases)

Der p 4 est un allergène de 60 kDa et un des allergènes les plus importants après Der p 1 et Der p 2. Sa séquence est typiquement celle des alpha-amylases et sa structure modélisée est celle de la famille des 13 glycosyl-hydrolases [68], un tonneau à 8 brins libres alpha/bêta contenant les sites actifs. Les séquences entre Der p 4 et Eur m 4 ont 90 % d'identité, ce qui n'est pas retrouvé pour d'autres allergènes. Der p 4 et Eur m 4 ont 50 % d'identité avec les amylases des insectes, des mammifères et des mollusques. Der p 4 et Eur m 4 ont tous les deux des sites de glycosylation mais à des positions différentes. La fréquence de liaison aux IgE pour les allergènes du groupe 4 est en moyenne de 40 % [69], variant de 25 à 46 %.

Allergènes du groupe 5 (fonction inconnue)

Der p 5 est un polypeptide d'une masse moléculaire de 15 kDa, ayant une liaison de 40 % avec les IgE, ce qui le classe parmi les allergènes d'allergénicité moyenne. La fonction de cet allergène n'a pu être déterminée. Der p 5 ne semble pas abondant dans la poussière domestique ; à Tapei où les acariens *Pyroglyphides* sont

- Der p 4 est un allergène de 60 kDa, un des plus importants après Der p 1 et Der p 2.
- Sa séquence est celle des alpha-amylases.
- Der p 4 et Eur m 4 n'ont 90 % d'identité, mais n'ont que peu d'identité avec d'autres allergènes.

abondants, Der p 5 est présent à des taux inférieurs à 100 ng/g de poussière [70]. Des isoformes des allergènes du groupe 5 peuvent avoir des différences importantes de leurs séquences en AA. Der p 5 est sécrété par les cellules épithéliales du tractus intestinal de *D. pteronyssinus* [71].

Blo t 5 de *B. tropicalis* est un allergène majeur de cette espèce. Il se lie à 70 % des IgE sériques [72]. L'identité de séquence des acides aminés est de 43 % avec Der p 5 [73], mais il n'y a cependant pas de réactivité croisée entre Blo t 5 et Der p 5.

Der p 21 a une identité de séquence de 40 % avec Blo t 5. La région C-terminale de Der p 5 a une séquence proche de Der p 21 [4]. Cependant, globalement, Der p 21 et Der p 5 n'ont que 30 % d'identité. Indépendamment de toute activité protéasique, contrairement à Der p 1, Der p 5 augmente la production d'IL-6 et d'IL-8 par des voies dépendantes de la mobilisation du calcium intracellulaire et induit un rétrécissement des cellules d'une ligne épithéliale en culture [74].

- Der p 5 est un polypeptide d'une masse moléculaire de 15 kDa, ayant une liaison de 40 % avec les IgE.
- Sa fonction est inconnue.
- Blo t 5 de *B. tropicalis* est un allergène majeur de ce groupe qui se lie à 70 % des IgE sériques.
- Der p 21 a une identité de séquence de 40 % avec Blo t 5 mais seulement 30 % avec Der p 5.
- Der p 5 augmente la production d'IL-6 et d'IL-8 par des voies dépendantes de la mobilisation du calcium intracellulaire.

Allergènes du groupe 6 (à fonction chymotrypsine)

Les allergènes du groupe 6 sont des protéines de 25 kDa purifiées à partir d'extraits de *D. pteronyssinus* et *D. farinae* [75]. Der p 6 contient les résidus catalytiques caractéristiques des sérine-protéases. Une sérine en position 189 détermine la spécificité des trypsines du groupe 6. Ils ne croisent pas sérologiquement avec les trypsines du groupe 3. Ce manque de réactivité croisée s'explique du fait de la faible identité de séquence entre les allergènes du groupe 6 et ceux du groupe 3. Entre Der f 6 et Der p 6, l'identité de séquence est de 75 %.

Les allergènes du groupe 6 sont des protéines de 25 kDa purifiées à partir d'extraits de *D. pteronyssinus* et *D. farinae*.

Groupe 7 (fonction inconnue)

Les allergènes du groupe 7 ont dans la hiérarchie des allergènes des acariens *Pyroglyphides*, une allergénicité moyenne. Der p 7 se lie à 50 % des IgE spécifiques des sujets allergiques à un extrait global d'acariens. Son poids moléculaire est de 22 kDa. Peu de choses sont connues sur sa

structure. Un point important est sa glycosylation élevée et variable. L'allergène est retrouvé par immuno-empreinte au niveau des bandes de 26, 30 et 31 kDa [76]. Des analyses génomiques récentes ont montré une similarité avec des domaines de prénylcystéine lyase retrouvés dans des protéines d'insectes. Les allergènes du groupe 7 sont labiles, ils ne sont présents qu'à de faibles concentrations dans les extraits d'acariens [4].

- Les allergènes du groupe 7 ont un poids moléculaire de 22 kDa et leur allergénicité est moyenne.
- Der p 7 se lie à 50 % des IgE spécifiques des sujets allergiques à un extrait global d'acariens.
- Les allergènes du groupe 7 sont labiles.

Groupe 8 (glutathion-S-transférase)

Der p 8 est un polypeptide faisant partie de la famille des glutathion-S-transférases constituées de 204 résidus et réagissant avec 40 % des IgE d'un extrait global de Dpt [77]. Der p 8 n'est pas très abondant dans les extraits d'acariens. L'existence d'une réactivité croisée avec la glutathion-S-transférase de *Blattella germanica*, Bla t 5, a été discutée. Les chances d'une réactivité croisée semblent faibles [78], l'identité de séquence n'étant que de 25 %. Une réactivité croisée avec la blatte américaine serait plus vraisemblable [79].

Groupe 9 (sérine-protéase à activité collagénolytique)

Der p 9 est une sérine-protéase à activité collagénolytique différente de Der p 3 et de Der p 6. Son identité de séquence en acides aminés est de 38 % avec la trypsine de Der p 3 et de 40 % avec la chymotrypsine de Der p 6. Sa masse moléculaire est de 28 kDa. Comme Der p 3, les allergènes du groupe 9 sont capables d'induire la libération de GM-CSF et d'éotaxine par activation du récepteur PAR-2 sur des cellules épithéliales [67]. Ils peuvent également augmenter la perméabilité de l'épithélium bronchique par clivage des jonctions serrées en agissant sur d'autres sites que Der p 1 [25]. Ces allergènes sont probablement importants, mais leur spécificité n'a pu être déterminée précisément.

- Der p 9 est une sérine-protéase de 28 kDa à activité collagénolytique différente de Der p 3 et de Der p 6.
- Son identité de séquence en acides aminés est de 38 % avec la trypsine de Der p 3 et de 40 % avec la chymotrypsine de Der p 6.
- Ces allergènes peuvent induire la libération de GM-CSF et d'éotaxine par activation du récepteur PAR-2 sur des cellules épithéliales, et augmenter la perméabilité de l'épithélium bronchique par clivage des jonctions serrées.

Groupe 10 : tropomyosine

La tropomyosine participe à la contraction musculaire. Elle intervient également dans la régulation de la morphologie et de la mobilité cellulaire. En raison de son rôle dans des fonctions vitales, la tropomyosine a été hautement conservée au cours de l'évolution, elle est aussi largement distribuée parmi de nombreux invertébrés. La tropomyosine a une structure hélicoïdale ; elle est constituée de deux hélices alpha enroulées l'une autour de l'autre. Il existe de nombreuses isoformes, dont 12 ont été identifiées chez le rat [80]. Le haut degré d'identité de séquence des AA des différentes tropomyosines confère à ces molécules une qualité de pan-allergène responsable d'allergies croisées avec différents invertébrés [81,82]. La prévalence de la sensibilisation à la tropomyosine chez les sujets allergiques aux acariens est faible en Europe, variant de 5,6 à 18% [83], et elle est élevée dans des régions d'endémie parasitaire telles que le Japon [84] ou l'Afrique. Les nématodes (*Anisakis simplex*, *ascaris*...) et les trématodes ont en effet des allergènes croisant avec la tropomyosine des acariens. Une des caractéristiques essentielles et surprenante de la tropomyosine des acariens est qu'elle peut être à l'origine d'allergies alimentaires croisées. La tropomyosine est en effet un allergène majeur des crustacés [85,86] : langouste (*Pan s 1*), homard (*Hom a 1*), crabe (*Cha f 1*), écrevisse... Elle est également présente dans certains mollusques comme le calamar (*Tod p 1*), les huîtres (*Crag 1*) et les moules (*Myt e 1*). La tropomyosine des crevettes, longtemps considérée comme l'allergène majeur unique, est la tropomyosine de référence à laquelle les autres tropomyosines ont été comparées [87]. Un dosage des IgE sériques vis-à-vis de la tropomyosine recombinante de crevettes est disponible en immuno-CAP (rPen a 1).

Quant à l'association allergie alimentaire aux escargots et tropomyosine d'acariens, elle est contestée et contestable [88]. À la différence des tropomyosines de crustacés, elle n'a qu'une homologie de séquence en AA de 62 à 65% avec la tropomyosine des crevettes. Dans plusieurs études, l'analyse des sérums de patients allergiques aux acariens et allergiques aux escargots par immunoblot, innocente la tropomyosine. La présentation clinique des entités allergie aux acariens – allergie aux crustacés (urticaire et angio-œdème le plus souvent) et allergie aux acariens – allergie aux escargots (crise d'asthme aiguë grave, choc anaphylactique) est différente.

La tropomyosine présente dans les *Pyroglyphides* (*Der p 10*, *Der f 10*) est également retrouvée dans les acariens de stockage (*Lep d 10*) et dans *B. tropicalis* (*Blo t 10*). L'homologie de séquence en AA de ces différentes tropomyosines est majeure : 98% entre *Der p 10* et *Der f 10*, et 94% entre *Der p 10* et *Blo t 10* [89,90].

Parmi les insectes, la tropomyosine a été identifiée chez les blattes : *Blattella germanica* (*rBlag 7*) et *Periplaneta americana* (*rPer a 7*) qui ont entre elles une homologie de séquence de 96,5% et sont considérées comme des allergènes majeurs des blattes [91,92]. La tropomyosine est encore un allergène de l'ordre des diptères : mouches et chironomides, un allergène de l'ordre des Thysanoures [93] : lépismes ou petits poissons d'argent (*Lepisma saccharina*, *rLep s 1*) [94].

- La tropomyosine, très ubiquitaire, participe à la contraction musculaire.
- L'identité de séquence des AA des différentes tropomyosines est importante, ce qui explique les nombreuses allergies croisées avec différents invertébrés.
- La prévalence de la sensibilisation à la tropomyosine chez les sujets allergiques aux acariens est faible en Europe mais élevée dans des régions d'endémie parasitaire (Japon ou Afrique).
- La tropomyosine des acariens peut être à l'origine d'allergies alimentaires croisées.
- La tropomyosine présente dans les *Pyroglyphides* (*Der p 10*, *Der f 10*) l'est également dans les acariens de stockage (*Lep d 10*) et dans *B. tropicalis*, et elle a été identifiée chez les blattes, les mouches, les chironomides et les lépismes (petits poissons d'argent).

Autres allergènes des acariens

Groupe 11 (paramyosine)

Il s'agit de protéines de masse moléculaire élevée (92–94 kDa). La paramyosine est une protéine de structure du muscle des invertébrés. Les études de Taiwan et Singapour ont montré une fréquence élevée d'IgE liées par la paramyosine de *D. farinae*, *D. pteronyssinus* et *B. tropicalis* [95]. Il semble néanmoins qu'il y ait des fixations non spécifiques des IgE. Les études effectuées avec *B. tropicalis* ont montré une liaison de 67% des IgE à *Blo t 11* [96,97]. Les allergènes naturels de ce groupe sont en partie dégradés et présents à de faibles doses : moins d'1 µg/ml. Les paramyosines sont présentes dans des parasites (*Taenia*, *Schistosoma*, *Anisakis*...), néanmoins les réactions croisées semblent improbables en raison de pourcentages d'identité faibles d'environ 35%.

Groupe 12 (fonction inconnue)

Il n'a pas été décrit de groupe 12 pour les acariens *Pyroglyphides*. Les allergènes du groupe 12 ont été mis en évidence chez des acariens de stockage ainsi que chez *B. tropicalis*. *Blo t 12a* a un poids moléculaire de 14 kDa et une séquence de 124 acides aminés. Cette protéine lie les IgE de 50% des sujets allergiques à un extrait global de *B. tropicalis*. Les allergènes du groupe 12 de *L. destructor* et *B. tropicalis* ont une identité de séquence très forte et inhabituelle : 93% [2].

- La paramyosine a une masse moléculaire élevée (92–94 kDa) et fait partie de la structure du muscle des invertébrés.
- Il existe de nombreuses IgE liées par la paramyosine de *D. farinae*, *D. pteronyssinus* et *B. tropicalis*.
- Les paramyosines sont présentes dans des parasites (*Taenia*, *Schistosoma*, *Anisakis*...).

- Les allergènes du groupe 12 ont été mis en évidence chez des acariens de stockage ainsi que chez *B. tropicalis*

Groupe 13 (protéine de liaison aux acides gras)

Ces protéines de liaison et de transport des acides gras représentent les 15^e protéines les plus abondantes trouvées dans les extraits d'acariens. Elles font partie de la série des protéines provenant de la cuticule [98]. Leur manque d'allergénicité peut être leur principale caractéristique. Il est rare que les patients produisent des IgE spécifiques vis-à-vis de cette protéine, aussi bien pour les *Glycyphagidae* que pour les *Pyroglyphidae* (Der f 13). La structure tertiaire de Der f 13 a été résolue par résonance magnétique nucléaire, elle montre la structure typique de la famille des protéines cytosoliques se liant aux acides gras [98].

Le recombiné rBlo t 13 a un poids moléculaire de 14,8 kDa. Il ne se lie qu'à 10 % des sérums des patients allergiques à *B. tropicalis*. Aca s 13 d'*Acarus siro* a une fréquence de liaison aux IgE de 23 % [99].

- Ces protéines de liaison et de transport des acides gras font partie des protéines provenant de la cuticule et sont peu allergisantes.
- Le recombiné rBlo t 13 a un poids moléculaire de 14,8 kDa et ne se lie qu'à 10 % des sérums des patients allergiques à *B. tropicalis*, contre 23 % pour Aca s 13 d'*A. siro*.

Groupe 14 (lipotransférase : LLTP)

Les allergènes du groupe 14 font partie de la famille des LLTP (large LTP) (protéines de transfert des lipides). Cette famille inclut les vitellogénines et les apoliphorines, ainsi que d'autres molécules du système de défense des insectes et des molécules intervenant dans l'hématopoïèse. Le nombre d'acides aminés déterminé à partir d'*E. maynei* est de 250. Leur masse moléculaire est très élevée : 167 kDa. Il s'agit d'allergènes du corps des acariens qui peuvent se déliter en différents fragments. Leur séquence est très proche de celle des vitellogénines des crustacés [100]. Les anticorps vis-à-vis de Der p 14 et Der f 14 réagissent à la fois avec les acariens mâles et femelles. Cette indifférence vis-à-vis du sexe indique une fonction autre que celle de vitellogénines [4].

La région C-terminale de *Sarcoptes scabiei* et *B. tropicalis* montre une identité de séquence de 60 et 44 % respectivement, vis-à-vis de Der p 14, ce qui est important si l'on prend en compte l'éloignement taxonomique de ces espèces. Les allergènes du groupe 14 pourraient être importants, mais jusqu'à présent ils n'ont pas suscité de nombreux travaux. Ces allergènes sont susceptibles de subir une dégradation protéolytique dans les extraits qui les contiennent.

- Les allergènes du groupe 14 font partie de la famille des protéines de transfert des lipides (LLTP).
- Leur masse moléculaire est très élevée : 167 kDa.
- La région C-terminale de *S. scabiei* et *B. tropicalis* montre une identité de séquence de 60 et 44 % respectivement, vis-à-vis de Der p 14.

Groupe 15 (chitinase)

Les allergènes du groupe 15 sont surtout intéressants parce qu'ils sont des allergènes majeurs chez le chien. Chez le chien, les IgE se lient très majoritairement à ces chitinases [101,102]. Chez l'homme, environ 70 % des IgE se lient aussi à un recombiné rDer p 15 [103]. Leurs séquences sont l'exacte reproduction de celles des chitinases. Ils ont une région d'O-glycosylation [101,102]. Ces allergènes chez les acariens sont présents dans l'intestin mais ne passent pas dans les particules fécales [101].

- Chez l'homme, près de 70 % des IgE se lient à un recombiné rDer p 15.
- Ces allergènes sont présents dans l'intestin des acariens mais ne passent pas dans les particules fécales.

Groupes 16 et 17 (gelsoline et protéines de liaison au calcium)

Les désignations de 16 et 17 ont été données pour la gelsoline et une protéine de liaison au calcium, chacune d'elles liant les IgE de 35 à 50 % des sérums des patients allergiques aux acariens [104].

Groupe 18 (chitinase)

Der f 18 est une chitinase de 60 kDa qui est distincte de Der f 15, avec laquelle elle ne partage qu'une identité de séquence de 25 % [103]. Il s'agit d'un allergène important pour les chiens. Chez l'homme, Der f 18 lie 54 % des IgE, et une réactivité plus importante a été rapportée pour Der p 18 [105].

Ces chitinases sont impliquées chez les mammifères dans l'inflammation et le remodelage tissulaire. Chez les acariens, elles sont présentes dans l'intestin supérieur mais pas dans les fèces.

- Der f 18 est une chitinase de 60 kDa distincte de Der f 15.
- Il lie 54 % des IgE (plus pour Der p 18).
- Ces chitinases interviennent dans l'inflammation et le remodelage tissulaire chez les mammifères.

Groupe 19 (peptide antimicrobien)

La dénomination du groupe 19 correspond à un allergène de *B. tropicalis*, homologue d'un peptide antimicrobien mal défini, d'une masse moléculaire de 7 kDa et d'une faible allergénicité avec une fréquence de réactivité qui n'est que de 10%.

Groupe 20 (arginine-kinases)

Le groupe 20 correspond à des arginine-kinases d'une masse moléculaire de 40 kDa. Il est surtout intéressant parce que sa séquence est hautement conservée chez d'autres invertébrés, 80% d'homologie avec les crustacés, 75% avec les insectes, 45% avec des enzymes de mammifères. Il a été montré que la fréquence de liaison aux IgE était de 40% chez les patients allergiques aux extraits globaux d'acariens, mais avec des taux d'IgE faibles [105].

- Le groupe 20 correspond à des arginine-kinases d'une masse moléculaire de 40 kDa dont la fréquence de liaison aux IgE est de 40% chez les patients allergiques aux extraits globaux d'acariens, mais avec des taux d'IgE faibles.

Groupe 21 (fonction inconnue)

Le groupe 21 est constitué de protéines liant les IgE de 30% des sérums des patients autrichiens [106]. Leur séquence a des similitudes avec celles du groupe 5, sans qu'il y ait de réactivité croisée. Les allergènes du groupe 21 ont 26% d'identité de séquence avec Der p 5 alors qu'il y a 38% d'identité de séquence entre Blo t 21 et Blo t 5, et 44% d'identité entre Der p 21 et Blo t 5 [107]. Der p 21 est localisé dans les cellules épithéliales intestinales, le lumen et les particules fécales de *D. pteronyssinus* [106]. Der p 21 pourrait être un homologue de Blo t 5, s'étant détaché de Blo t 5 progressivement au cours de l'évolution. Il s'agit donc d'un paralogue de Blo t 5 [107].

- Les allergènes du groupe 21 ont 26% d'identité de séquence avec Der p 5, contre 38% entre Blo t 21 et Blo t 5, et 44% entre Der p 21 et Blo t 5.
- On retrouve Der p 21 dans les cellules épithéliales intestinales, le lumen et les particules fécales de *D. pteronyssinus*.

Groupe 22

Dans ce groupe ne figure que Der f 22 qui a 35% d'identité avec Der f 2. Il s'agit d'un allergène d'origine intestinale, dont les IgE se fixent à 50% des sérums de patients allergiques à un extrait global de *D. farinae* [107].

Récapitulatif des allergènes de *B. tropicalis*

B. tropicalis fait désormais partie de la famille des *Echimyopodidae*, elle constitue un véritable allergène domestique

dans les pays tropicaux et sub-tropicaux. Vingt-cinq bandes protéiques se liant aux IgE des patients allergiques à *B. tropicalis* ont été mises en évidence par immunoblot [108]. Dix allergènes: Blo t 1, Blo t 3, Blo t 4, Blo t 5, Blo t 6, Blo t 10, Blo t 11, Blo t 12, Blo t 13 et Blo t 19 ont été officiellement dénommés et déposés dans une banque de données: www.allergen.org [109,110]. Les allergènes de *B. tropicalis* sont spécifiques, avec une réactivité croisée faible ou modérée avec d'autres allergènes des *Dermatophagoides* [111]. En ce qui concerne la prévalence des liaisons aux IgE, Blo t 5 constitue un allergène prédominant parmi les patients des pays tropicaux ou subtropicaux; la prévalence de liaison des IgE à Blo t 5 varie de 60 à 70% [111]. Viennent ensuite Blo t 12, Blo t 13 et Blo t 6. Les IgE de moins de 10% des patients se lient à Blo t 4 et Blo t 10. Blo t 1 ne semble pas être un allergène majeur, contrairement à ce qui avait été proposé initialement [109]. Gao et al. en ayant recours à l'*expressed sequence tagging* (EST) ont identifié un nouvel allergène important, Blo t 21 [6]. Blo t 21 a été reconnu par l'UISS, il s'agit d'une protéine de 129 acides aminés ayant 39% d'homologie de séquence en AA avec Blo t 1. Bien que plus de 75% des sujets allergiques à un extrait global de *B. tropicalis* soient sensibilisés à la fois à Blo t 5 et Blo t 21, ces deux allergènes n'ont entre eux qu'une réactivité croisée modérée. Il s'agit vraisemblablement de protéines provenant de gènes paralogues, gènes dupliqués du gène codant, s'étant séparés très tôt dans l'évolution, de sorte que leurs pourcentages d'identités sont faibles.

- Les allergènes de *B. tropicalis* sont spécifiques, avec une réactivité croisée faible ou modérée avec d'autres allergènes des *Dermatophagoides*.
- La prévalence de liaison des IgE à Blo t 5 varie de 60 à 70%.
- Blo t 21 est une protéine de 129 acides aminés ayant 39% d'homologie de séquence en AA avec Blo t 1.
- Blo t 5 et Blo t 21 n'ont entre eux qu'une réactivité croisée modérée, même si plus de 75% des sujets allergiques à un extrait global de *B. tropicalis* sont sensibilisés à ces deux allergènes.

Réactions croisées

La connaissance de la structure des molécules allergéniques des acariens purifiées ou clonées a permis de mieux comprendre les réactions croisées survenant chez des patients sensibilisés par des allergènes d'origines diverses: *Pyroglyphidae*, *Glycyphagidae* et *Acaridae* (acariens de stockage), *Echimyopodidae* (*B. tropicalis*).

On peut classer les réactions croisées en réactions intra-espèces, en réactions inter-espèces proches (exemple Der p 1 et Der f 1), en réaction inter-espèces plus éloignées appartenant à des familles différentes (*Pyroglyphidae* et acariens de stockage), en espèces phylogénétiquement éloignées appartenant à un autre ordre voire un autre embranchement (crevettes et acariens par exemple). De manière

générale, les réactions croisées entre deux allergènes sont liées aux pourcentages d'identité de leurs séquences en acides aminés (AA). Plus l'identité de séquences en AA entre deux allergènes est proche de 100% plus le risque de réactions croisées est élevé. Il a été suggéré que les identités de séquences en AA de deux allergènes supérieures à 70% étaient en faveur d'une réactivité croisée de ces deux allergènes [112]. Les disparités relatives observées entre deux allergènes homologues sont dues essentiellement à la structure tertiaire et à l'agencement des AA de surface. Chruszcz et al. [17] ont ainsi montré en comparant la structure tertiaire obtenue par cristallographie de Der p 1 et Der f 1, qu'il existait des différences des AA de surface, expliquant la réactivité croisée mais aussi la spécificité des IgE dirigées contre Der p 1 et Der f 1.

- Les réactions croisées entre deux allergènes sont liées aux pourcentages d'identité de leurs séquences en acides aminés.
- Des identités de séquences en AA supérieures à 70% entre deux allergènes sont en faveur d'une réactivité croisée de ces deux allergènes.
- Les disparités observées entre deux allergènes homologues sont dues essentiellement à la structure tertiaire et à l'agencement des AA de surface.

Réactions intra-espèces

La quasi-identité des protéines à l'intérieur d'une espèce est une caractéristique de l'espèce. Il peut exister néanmoins de très nombreux variants ou isoformes définis comme ayant au moins 90% d'identité de séquences en AA : 23 pour Der p 1, 12 pour Der p 2 [20]. Ces polymorphismes pourraient modifier la réponse des lymphocytes T ou altérer les sites de liaison aux épitopes B. Certains considèrent que les différences entre ces isoformes pourraient être aussi grande que celles qui existent entre des allergènes d'espèces différentes, alors que, pour d'autres, le polymorphisme, par exemple celui de Der p 1, ne jouerait pas un rôle capital dans l'allergénicité [4].

Réactions croisées inter-espèces

Les homologies de séquences en AA sont d'autant plus importantes que les espèces sont phylogénétiquement proches, à l'exception de pan-allergènes comme la tropomyosine qui peut être retrouvée dans des espèces éloignées. Chaque espèce possède à la fois des allergènes communs qu'elle partage avec d'autres espèces, et des allergènes spécifiques qui lui sont propres. Le [Tableau 1](#) rapporte les homologies de séquences en AA entre les allergènes des acariens *Pyroglyphides*, les acariens de stockage et *B. tropicalis*.

Les homologies de séquences entre Dpt et Df sont très semblables, le plus souvent supérieures à 80%, de même qu'avec *Dermatophagoides microceras* et *Dermatophagoides siboney* [113].

E. maynei fait aussi partie des *Pyroglyphidae* ; du point de vue taxonomique, cet acarien est moins proche que ne le sont Dp et Df, et les différences avec les *Dermatophagoides* sont légèrement plus marquées. Par ailleurs, l'exemple d'*E. maynei* illustre également les différentes étapes chronologiques qui ont marqué la reconnaissance des réactions croisées ([Fig. 2](#)). Deux cent 50 sujets allergiques à *E. maynei* avaient simultanément des pricks tests positifs pour Dpt [114]. Par CIE (immunoélectrophorèse croisée) il a été montré qu'*E. maynei* avait 4 à 6 allergènes communs avec Dpt [115]. Une inhibition du RAST *E. maynei* avait été obtenue avec un extrait de Dpt, cette inhibition étant plus importante que l'inhibition inverse de *D. pteronyssinus* par *E. maynei* [114]. Par immunoblot, les IgE des sérums de patients sensibilisés aux *Dermatophagoides* se liaient également à la majorité des bandes protéiques d'*E. maynei* [116]. Enfin, Eur m 1 avait une identité de séquences de 89% avec Der p 1 [117] alors que la réactivité croisée des épitopes T d'*Euroglyphus* et de *D. pteronyssinus* était plus modeste [118].

Réactions croisées entre acariens *Pyroglyphides* et acariens de stockage

Les acariens de stockage les plus représentatifs et les plus souvent rencontrés sont *L. destructor*, *G. domesticus*, *T. putrescentiae*, *A. siro*, et plus rarement *Chortoglyphus*. On considère habituellement que *L. destructor* est l'espèce prédominante en Europe [119]. Cependant, des études effectuées en Espagne [120] ont montré que *G. domesticus* était le plus fréquent des acariens de stockage, suivi dans l'ordre par *T. putrescentiae* et *L. destructor*. Dans une autre étude [121] *T. putrescentiae* et *L. destructor* étaient à l'origine de la majorité des sensibilisations, quelle que soit la tranche d'âge. *A. siro*, sans doute en raison de ses exigences nutritionnelles et de la spécificité de ses besoins alimentaires (fromage, farine), semble moins souvent rencontré en milieu domestique. Plusieurs espèces peuvent coexister dans un même espace, pourvu que celui-ci assure aux acariens leurs trois besoins essentiels : protection, nourriture, reproduction. La présence de *D. pteronyssinus*, même lorsque les acariens de stockage ou *B. tropicalis* sont abondants [122], est quasi constante. La question se pose alors de savoir si la sensibilisation est due à des allergènes propres à chaque espèce ou à des allergènes croisés.

Arias-Irigoyen et al. [120] concluent qu'il faudrait inclure dans le bilan d'un asthme présumé allergique aux acariens, les acariens de stockage. La plupart des études montrent une inhibition de la liaison aux IgE des extraits d'acariens de stockage par *D. pteronyssinus* ou *D. farinae* et réciproquement [123–125]. La comparaison des identités de séquences en AA entre *Dermatophagoides* et acariens de stockage est faible, toujours inférieure à 50%, en-dehors de Der p 13 et Gly d 13, ou Der p 13 et Lep d 13 qui ont une homologie avec de nombreuses protéines se liant aux acides gras et présentes dans de nombreuses espèces [4]. D'une manière générale, les *Dermatophagoides* sont de plus puissants inhibiteurs d'*A. siro*, de *T. putrescentiae*, de *L. destructor* que l'inverse [124,125]. Certes *L. destructor* a pu inhi-

Tableau 1 Homologies des séquences en AA (acides aminés) des acariens pyroglyphides, des acariens de stockage et de *Blomia tropicalis*.

Allergènes des acariens	Identité des séquences en AA (%)	Réactivité croisée possible
Der p 1 et Der f 1	80–85.....	Oui
Der p 1, Der f 1 et Der m 1	80.....	Oui
Der p 1, Der f 1 et Eur m 1	76.....	Oui
Der p 1, Der f 1 et Blo t 1	36.....	Non
Der p 2 et Der f 2	88.....	Oui
Der p 2, Der f 2, Eur m 2	82.....	Oui
Der p 2 et Lep d 2	36.....	Non
Der p 2 et Tyr p 2	41.....	Non
Der f 2 et Tyr p 2	43.....	Non
Gly d 2 et Lep d 2	80.....	Oui
Der p 3 et Der f 3	81.....	Oui
Der p 3, Der f 3 et Eur m 4	81.....	Oui
Der p 3, Der f 3 et Blo t 3	48.....	Non
Der p 4 et Eur m 4	90.....	Oui
Der p 5 et Blo t 5	43.....	Non
Gly d 2 et Lep d 2	80.....	Oui
Der p 3 et Der f 3	81.....	Oui
Der p 3, Der f 3 et Eur m 3	81.....	Oui
Der p 3, Der f 3 et Blo t 3	48.....	Non
Der p 4 et Eur m 4	90.....	Oui
Der p 5 et Blo t 5	43.....	Non
Der p 5 et Lep d 5	30.....	Non
Der p 6 et Der f 6	76.....	Oui
Der f 6 et Der p 3	37.....	Non
Der p 6 et Blo t 6	58.....	Non
Der p 7 et Der f 7	86.....	Oui
Der p 7 et Lep d 7	29.....	Non
Der p 8 et Bla g 5	25.....	Non
Der p 9 et Der f 9	72.....	Oui
Der p 9 et Blo t 9	56.....	Non
Der p 9 et Der p 3	38.....	Non
Der p 10 et Der f 10	98.....	Oui
Der p 10 et Lep d 10	94.....	Oui
Der p 10 et Tyr p 10	94.....	Oui
Der p 11 et Der f 11	89.....	Oui
Der p 11 et Blo t 11	78.....	Oui
Lep d 12 et Blo t 12	95.....	Oui
Der p 3 et Blo t 13	80.....	Oui

ber *D. pteronyssinus*, mais la dose inhibitrice était 10 000 fois plus élevée que la dose *D. pteronyssinus* inhibant *L. destructor* [123].

Les identités de séquences entre différents acariens de stockage sont élevées : entre Tyr p 2, Gly d 2, et Lep d 2 ; elles sont surtout le fait des allergènes du groupe 2. Les résultats obtenus par CIE et CRIE indiquent que les *Dermatophagoïdes* et *Tyrophagus putrescentiae* auraient deux allergènes identiques, tandis que les *Dermatophagoïdes* et *A. siro* n'en auraient qu'un [124].

En ce qui concerne les inhibitions des réactions croisées, il a pu être montré que *L. destructor* pouvait entraîner une inhibition de la liaison aux IgE de *G. domesticus* de 80%, alors que *G. domesticus* est capable d'inhiber la liaison à *L. destructor*, le pourcentage d'inhibition

étant pratiquement le même (82%). *T. putrescentiae* était capable d'inhiber partiellement la liaison des IgE à *G. domesticus* et à *L. destructor*, alors que *G. domesticus* et *L. destructor* pouvaient inhiber complètement la liaison à *T. putrescentiae*. Cela indique que *T. putrescentiae* ne possède pas le répertoire complet des épitopes en possession de *G. domesticus* et *L. destructor*.

Épidémiologie moléculaire

L'épidémiologie moléculaire permet de mieux connaître la prévalence des sensibilisations aux différents allergènes et à leurs variants en fonction de l'âge, mais surtout en fonction de la localisation géographique des populations étudiées.

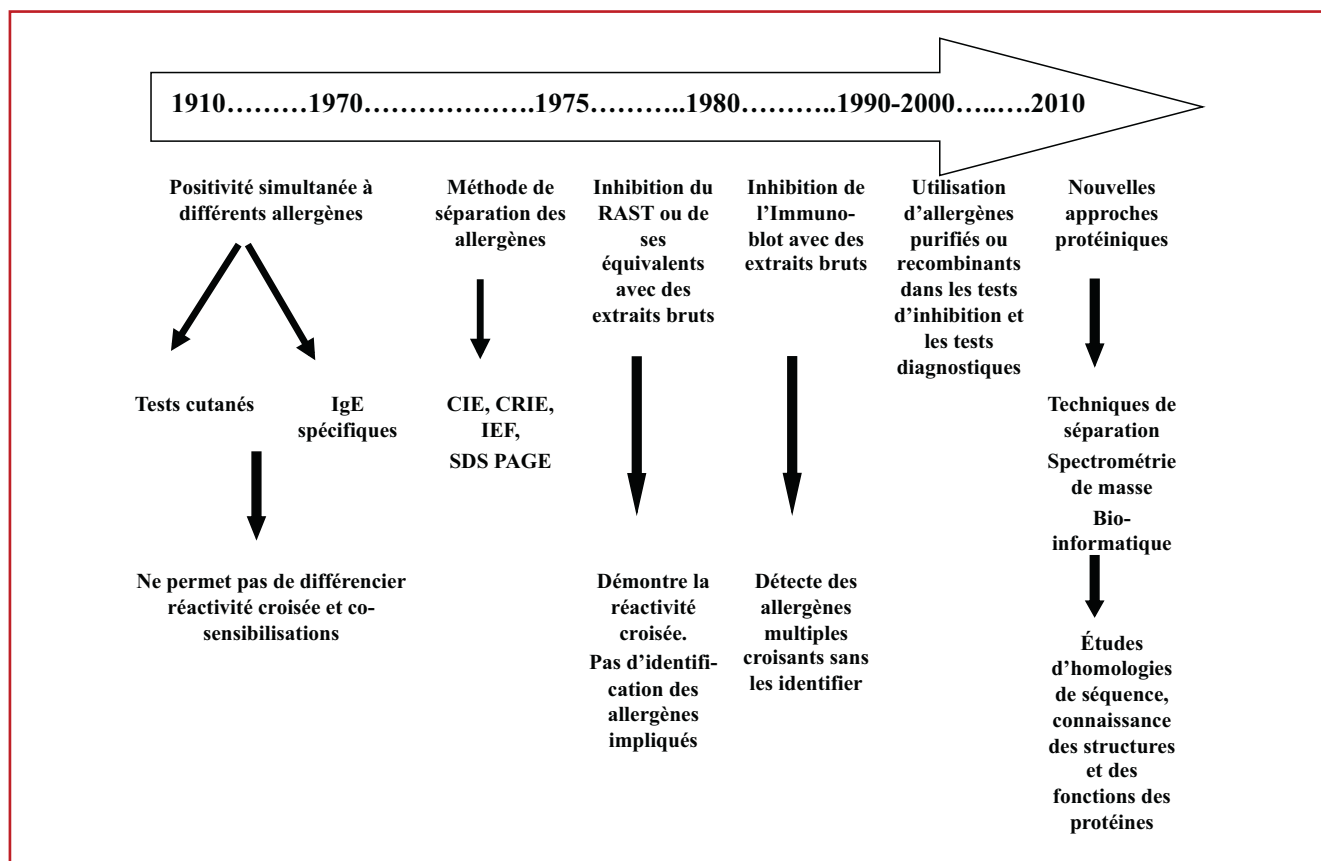


Figure 2. Évolution des techniques utilisées pour l'identification des allergènes croissants.

- Les acariens de stockage les plus souvent en cause dans les réactions croisées sont *L. destructor*, *G. domesticus*, *T. putrescentiae*, *A. siro*, et plus rarement *Chortoglyphus*.
- Il conviendrait de déterminer si la sensibilisation est due à des allergènes propres à chaque espèce ou à des allergènes croissants.
- Les identités de séquences entre les allergènes de différents acariens de stockage sont élevées et concernent surtout les allergènes du groupe 2.
- Lors d'expériences d'inhibition croisées, il a pu être démontré que *T. putrescentiae* n'avait pas le répertoire complet des épitopes de *G. domesticus* et *L. Destructor*.

En fonction de l'âge

Chez les enfants et chez les adultes ayant été sensibilisés dans l'enfance, la réactivité à Der p 2 et à un moindre degré à Der p 1 prédomine. La réactivité IgE vis-à-vis d'un, deux ou trois allergènes supplémentaires apparaît chez l'enfant âgé de plus de 3 ans. Chez les adultes dont le diagnostic de sensibilisation aux acariens est récent, les liaisons des IgE à Der p 1 et Der p 2 sont plus faibles, tandis qu'existent des IgE vis-à-vis d'autres allergènes tels que Der p 3 et Der p 4 [126,127].

En fonction de la localisation géographique

Dans la majorité des études rapportées, Der p 1 et Der p 2 représentent des allergènes majeurs. Les groupes 1 et 2 étaient reconnus par 82 % des IgE des patients allergiques au Japon, et 89 % en Espagne [128]. Hales et al. [105] ont également montré qu'en Australie les IgE anti-Der p 1 et anti-Der p 2 représentaient la majorité des IgE anti-acariens. Néanmoins, des allergènes qualifiés d'intermédiaires tels que Der p 4, Der p 5 et Der p 7 avaient également leur importance. La somme des IgE se liant à Der p 1, Der p 2, 4, 5 et 7 représentait 80 % de la réponse IgE globale alors que Der p 4, 5 et 7 n'en représentait que 30 %. La liaison des IgE aux groupes 3, 8, 10 et 20 était toujours basse, les liaisons aux IgE des groupes 6, 9, 13 et 17 étaient également faibles.

Dans une population provenant d'Europe Centrale [129], les prévalences de sensibilisation les plus élevées sont également obtenues pour nDer p 1 et rDer p 2 (91 et 89 %, respectivement), suivies de Der p 4 et Der p 7 (74 et 27 %, respectivement). Weghofer et al. [83] ont étudié la liaison aux IgE de 7 allergènes naturels et recombinés de *D. pteronyssinus* (nDer p 1, rDer p 2, nDer p 4, rDer p 5, rDer p 8, rDer p 10 et rDer p 14) par la technique des dot-blots dans différentes populations allergiques aux acariens, en Autriche ($n=56$), en France ($n=55$), en Italie ($n=67$) et en Suède ($n=65$). Dans ces quatre populations, nDer p 1 et rDer p 2 représentaient les allergènes majeurs avec des fréquences de liaison variant de 85 à 100 % pour nDer p 1 et

de 63 à 96 % pour rDer p 2. Des différences étaient notées en fonction des populations étudiées : les Italiens avaient la réactivité IgE vis-à-vis de Der p 7 la plus importante tandis que Der p 5 était plus souvent détecté par les Français. Les Suédois réagissaient avec une fréquence plus basse à l'allergène majeur rDer p 2 que les patients de France, d'Autriche et d'Italie. Dans une autre étude, les prévalences de sensibilisation à nDer p 1 (60 à 75 %) et rDer p 2 différaient peu à Sydney, en Afrique du Sud et à Vienne. En revanche, pour Der p 9 des prévalences supérieures à 50 % étaient retrouvées à Sydney, au Cap, mais pas à Vienne [130].

Une étude effectuée en Australie chez les Aborigènes a montré que les sérums des Aborigènes réagissaient de façon prédominante avec Der p 4 et moins fréquemment avec Der p 1 et Der p 2 [131]. Des profils de sensibilisation différents vis-à-vis des allergènes des acariens ont également été mis en évidence en Europe et au Zimbabwe [132], ou en Colombie où la positivité des groupes 1 et 2 était de 64 et 69 %, respectivement [133].

Concernant *B. tropicalis* : rBlot t 5, allergène majeur de *B. tropicalis* a été testé par tests cutanés et dosage des IgE sériques spécifiques au Brésil et en Virginie. Quarante-cinq pour cent des sérums des sujets allergiques à *Blomia* au Brésil reconnaissaient Blo t 5 contre 25 % seulement en Virginie [134].

Des différences en ce qui concerne la prévalence de sensibilisation à certains variants moléculaires ont également été constatées. Ces études ont surtout porté sur Der p 2. Ainsi, l'allergène dominant mis en évidence chez les habitants de Perth était Der p 2.0101 [2]. En Corée, la moitié des clones était du type Der p 2.0104. La même constatation a été faite à Bangkok [2], alors qu'aucune sensibilisation vis-à-vis de l'isoforme Der p 2.0101 n'était retrouvée dans ce pays. En Allemagne, 30 % des séquences des allergènes du groupe 2 étaient de type 0101 et 70 % de type 0107. Au Japon et en Corée, les séquences étaient le plus souvent de type 0101. L'isoforme la plus souvent rencontrée semble donc être le variant 0101 pour le groupe 2 [4].

- La prévalence des sensibilisations aux différents allergènes varie en fonction de l'âge et de la localisation géographique des populations étudiées.

Application au diagnostic de l'allergie aux acariens

Les différentes études rapportées ont pour but d'associer les allergènes des acariens les plus représentatifs afin d'avoir la meilleure sensibilité diagnostique.

Weghofer et al. [83] estiment que la combinaison Der p 1+Der p 2 permet de faire le diagnostic d'au moins 97 % des patients allergiques à *D. pteronyssinus*. Néanmoins, 50 % des patients réagissent vis-à-vis d'autres allergènes. L'adjonction de Der p 5 et Der p 7 apporte une sensibilité diagnostique de 100 %, tout au moins en Autriche, France et Suède. Arruda et al. [134] proposent d'avoir recours à Der

p 1, Der p 2 et Der p 5. Thomas et Hales [4,105] soumettent une combinaison élargie : Der p 1, Der p 2, Der p 4, Der p 5, Der p 7.

En conclusion, dans la majorité des cas, une combinaison associant Der p 1 et Der p 2, ou Der f 1 et Der f 2, semble suffisante pour ce que Valenta a appelé un « component resolved diagnostic ». Néanmoins, on sait qu'il persiste une activité allergénique après déplétion des groupes 1 et 2 des allergènes des *Dermatophagoides* [135]. Dans certaines populations, d'autres allergènes pourraient donc être associés, principalement Der p 4, Der p 5, Der p 7. Il faudrait aussi s'assurer de l'importance clinique des allergènes isolés, de la quantité qui est véritablement inhalée dans l'environnement intérieur. On devrait également tenir compte du rôle éventuel des composants non allergéniques des allergènes tels que les LPS qui semblent importants pour les allergènes du groupe 2.

- Pour le diagnostic, il faut s'assurer de l'importance clinique des allergènes isolés, de la quantité qui est véritablement inhalée dans l'environnement intérieur et du rôle éventuel des composants non allergéniques des allergènes.

Application à la détection des allergènes des acariens dans l'environnement domestique

Deux catégories de tests ont été développées au cours des dernières années, en dehors des méthodes de comptage et d'identification des acariens par des méthodes optiques. Il s'agit du dosage immunochimique des allergènes à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre les allergènes majeurs des *Dermatophagoides*, et de certains acariens de stockage, ainsi que du dosage de la guanine présente dans les fèces des acariens.

La guanine, catabolite final du métabolisme azoté des arachnides, présente dans les fèces d'acariens, est un marqueur utilisable pour la détection des allergènes des acariens, ceux-ci étant pour une large part, présents dans leurs fèces. L'Acarex-test®, basé sur le dosage semi-quantitatif de la guanine, a été mis au point par Bischoff et Schirmacher en 1984 [136] et validé secondairement [137]. Il s'agit d'un test colorimétrique dont les résultats sont donnés en quatre classes. Différentes études ont montré que la classe 0 correspond à des quantités très faibles d'allergènes, alors que les classes 2 et 3 reflètent de fortes concentrations en allergènes dans les poussières. Pour 10 µg d'allergènes par gramme de poussière, le test a une spécificité de 89 % lorsqu'il est de classe 2 et de 98,5 % lorsqu'il est de classe 3 [138]. La reproductibilité de la lecture est excellente pour les classes 0 et 3 [139], la principale limitation est la classe 1 en raison de variations importantes des taux d'allergènes dans cette classe. Le test de la guanine détecte également les acariens de stockage [140], mais alors que la corrélation avec les *Dermatophagoides* est excellente, elle ne l'est pas avec *G. domesticus* dont la nourriture est différente [141].

Les techniques immuno-chimiques ont d'abord été basées sur les techniques Elisa, faisant appel à des anticorps monoclonaux d'origine murine dirigés contre les épitopes des allergènes des acariens. Ces dosages ont été utilisés pour la quantification de Der p 1 et Der f 1 pour les espèces *Dermatophagoides* [142]. Un dosage permettant la détection d'un allergène commun de 39 kDa des principaux acariens de stockage (*L. destructor*, *G. domesticus*, *T. putrescentiae* et *A. siro*), des dosages d'allergènes spécifiques de *L. destructor* et de *B. tropicalis*, ont également utilisé la technique Elisa [143–145]. Des études de contrôle de qualité ont montré des variabilités inter-laboratoires, mais la reproductibilité intralaboratoire s'est avérée suffisante pour une bonne identification des taux d'allergènes, ainsi que pour l'étude de leur évolution au cours du temps [146].

Les techniques Elisa sont cependant peu adaptées à des prélèvements effectués pour des études épidémiologiques. La mise au point de nouvelles techniques où les anticorps spécifiques sont couplés à des microsphères fluorescentes (*fluorescent multiplex array*) a permis de mesurer concomitamment les allergènes Der p 1, Der f 1 et les allergènes du groupe 2, avec une limite de détection meilleure (0,06 mg/ml versus 0,5 mg/ml pour la technique Elisa) [147]. La corrélation avec les dosages Elisa est excellente; la possibilité de faire des dosages simultanés sur de multiples échantillons permet des études plus étendues des allergènes de l'environnement domestique.

Des dosages immuno-chimiques semi-quantitatifs avaient été mis au point antérieurement, utilisant soit des anticorps monoclonaux dirigés contre les allergènes du groupe 2 (Rapid-test® [148]), des anticorps monoclonaux dirigés contre Der p 1 et Der f 1 (Dust screen [149]), ou encore des anticorps polyclonaux (Aclostest® [150]). La lecture se base sur l'intensité d'une bande de coloration de la membrane de nitrocellulose qui varie en fonction de la quantité d'anticorps fixés.

- Ces dernières années deux types de tests ont été mis au point, en dehors des méthodes de comptage et d'identification des acariens par des méthodes optiques : dosage immuno-chimique des allergènes et dosage de la guanine présente dans les fèces des acariens.
- La guanine, catabolite final du métabolisme azoté des arachnides, présente dans les fèces d'acariens, est un marqueur utilisable pour la détection des allergènes des acariens.
- De nouvelles techniques immuno-chimiques couplent les anticorps spécifiques à des microsphères fluorescentes (*fluorescent multiplex array*), et permettent de mesurer simultanément les allergènes Der p 1, Der f 1 et les allergènes du groupe 2, avec une bonne limite de détection.
- Il existe également des dosages immuno-chimiques semi-quantitatifs utilisant soit des anticorps monoclonaux dirigés contre les allergènes du groupe 2 ou contre Der p 1 et Der f 1, soit des anticorps polyclonaux.

Application à l'immunothérapie spécifique

La mise à disposition de molécules recombinantes d'allergènes majeurs offre de multiples avantages par rapport aux extraits actuels; des recherches intensives ont été effectuées au cours des 15 dernières années pour mettre au point des dérivés hypoallergéniques ayant une activité allergénique réduite mais gardant leur capacité à stimuler les cellules T [151]. Des peptides recombinants correspondant seulement aux épitopes T des allergènes de *D. pteronyssinus* ont été utilisés chez la souris [152–154]. La recherche d'hypoallergènes du groupe 2 a été effectuée directement à partir de l'ADN des allergènes du groupe 2 des acariens de stockage, *L. destructor* et *G. domesticus*; ces isoformes de Lep d 2 et Gly d 2 ont induit des anticorps bloquants chez la souris [155]. La réduction de l'allergénicité de Der p 2 a également été obtenue par l'utilisation de deux fragments de Der p 2, ainsi que par une molécule hybride contenant la totalité des épitopes T de Der p 2 [156]. Enfin, deux molécules hybrides ont été construites, incluant deux protéines recombinantes correspondant à la quasi-totalité des séquences de Der p 1 et de Der p 2, et incluant en outre un fragment de Der p 2 modifié par mutation ponctuelle au niveau des ponts disulfures. La diminution de l'IgE réactivité de ces molécules hybrides a été étudiée chez 106 patients allergiques aux *Dermatophagoides*, et a montré une diminution importante des réactions cutanées, ainsi qu'une diminution du taux des IgE spécifiques vis-à-vis des molécules hybrides par rapport aux allergènes naturels. L'activité de stimulation des lymphocytes T par les molécules hybrides fut confirmée chez 25 patients, et l'induction d'IgG bloquantes vérifiée expérimentalement chez la souris [157]. Cependant, aucune de ces molécules n'a pour l'instant fait l'objet d'un essai clinique de désensibilisation qui seul pourra apporter la preuve de leur efficacité. La poursuite des travaux de biologie moléculaire dans le domaine des acariens se fera sur des molécules ayant démontré une grande fréquence de sensibilisation, une importante production d'IgE spécifiques et une pertinence clinique. Il est donc logique que les recherches actuelles s'orientent en premier lieu vers Der p 1 et Der p 2.

- On a mis au point des dérivés hypoallergéniques ayant une activité allergénique réduite mais gardant leur capacité à stimuler les cellules T.
- Des isoformes de Lep d 2 et Gly d 2 ont permis d'induire des anticorps bloquants chez la souris.
- L'allergénicité de Der p 2 a également été atténuée par l'utilisation de deux fragments de Der p 2, ainsi que par une molécule hybride contenant la totalité des épitopes T de Der p 2.
- Deux molécules hybrides ont été construites, incluant d'une part deux protéines recombinantes correspondant à la quasi-totalité des séquences de Der p 1 et de Der p 2, d'autre part un fragment de Der p 2 modifié par mutation ponctuelle au niveau des ponts disulfures, ce qui a permis d'obtenir une diminution importante des réactions cutanées et une diminution du taux des IgE spécifiques.

Conclusion

En conclusion, l'étude des différents allergènes des acariens s'allonge et se complète d'années en années. Des allergènes sont en attente de reconnaissance par l'IUIS. La connaissance des allergènes a des applications pratiques et cliniques : meilleure compréhension des réactions croisées, contribution à l'amélioration des diagnostics et de l'immunothérapie spécifique. À l'heure actuelle, plutôt que de parler d'allergie aux acariens, il serait plus juste de parler d'allergies aux différentes molécules des allergènes des acariens.

Déclaration d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement Anne Casset pour sa lecture attentive du manuscrit et ses corrections pertinentes. Ils remercient également Béatrice Oesterlé et Nathalie Ziegler pour leur aide de secrétariat.

POINTS ESSENTIELS

- Les acariens de la famille des *Pyroglyphidae* sont la plus importante source des allergènes des acariens.
- 22 allergènes ont été identifiés dont certains ont un polymorphisme élevé et il existe des réactions croisées.
- Certains allergènes ont une fonction biochimique.
- Ces données permettent de choisir les allergènes à utiliser pour le diagnostic et d'envisager leur utilisation future pour la désensibilisation spécifique.

Références

- [1] Chapman MD, Pomes A, Breiteneder H, et al. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:414–20.
- [2] Piboonpocanun S, Malainual N, Jirapongsananuruk O, et al. Genetic polymorphisms of major house dust mite allergens. *Clin Exp Allergy* 2006;36:510–6.
- [3] Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, et al. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:1–18.
- [4] Thomas WR, Heinrich TK, Smith WA, et al. Pyroglyphid house dust mite allergens. *Protein Peptide Lett* 2007;14:943–53.
- [5] Malandain H. Les acariens. *Allerdata*; 2009, pp. 1–30.
- [6] Gao YF, Wang DY, Ong TC, et al. Identification of a novel allergen from *Blomia tropicalis*: Blo t 21. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:105–12.
- [7] Malandain H, Giroux F, Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007;39:216–20.
- [8] Carswell P. House dust allergy. *ACI International* 1999;11:43–5.
- [9] Van Hage-Hamsten M, Olsson S, Emilson A, et al. Localisation of major allergens in the house dust mite *Lepidoglyphus destructor* with confocal laser scanning microscopy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:536–42.
- [10] Tovey ER, Chapman MD, Platts-Mills TAE. Mite faeces are a major source of house dust allergens. *Nature* 1981;289:592–3.
- [11] Kort HSM, Kniest FM. Four-year stability of Der p 1 in house dust under simulated domestic conditions in vitro. *Allergy* 1994;49:131–3.
- [12] Platts-Mills TAE. Indoor allergens. In: Adkinson NF, Bochner B, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, Simmons FE, editors. *Middleton's Allergy Principle and Practice*, 7th ed Philadelphia, USA: Elsevier; 2009. p. 539–55.
- [13] de Blay F, Heymann PW, Chapman MD, et al. Airborne dust mite comparison of group II allergens with group I mite allergen and cat allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:919–26.
- [14] De Lucca S, Sporik R, O'Heara TJ, et al. Mite allergen (Der p 1) is not only carried on mite feces. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:174–5.
- [15] Casset A, Purohit A, Birba E, et al. Bronchial challenge test in asthmatics sensitized to mites: role of particle size in bronchial response. *J Aerosol Med* 2007;20:509–18.
- [16] Chua KY, Stewart GA, Thomas WR, et al. Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen Der p 1. Homology with cysteine proteases. *J Exp Med* 1988;167:175–82.
- [17] Chruszcz M, Chapman MD, Vailes LD, et al. Crystal structures of mite allergens Der f 1 and Der p1 reveal differences in surface-exposed residues that may influence antibody binding. *J Mol Biol* 2009;20:520–30.
- [18] Thomas WR, Stewart GA, Simpson RJ, et al. Cloning and expression of DNA coding for the major house dust mite allergen Der p 1 in *Escherichia coli*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;85:127–9.
- [19] Hales BJ, Thomas WR. T-cell sensitisation to epitopes from the house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Euroglyphus maynei*. *Clin Exp Allergy* 1997;27:868–75.
- [20] Greene WK, Chua KY, Stewart GA, et al. Antigenic analysis of group I house dust mite allergens using random fragments of Der p 1 expressed by recombinant DNA libraries. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990;92:30–8.
- [21] Herbert CA, King CM, Ring PC, et al. Augmentation of permeability in the bronchial epithelium by the house dust mite allergen Der p 1. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:369–78.
- [22] Roche N, Chinnet TC, Huchon GJ. Allergic and non allergic interactions between dust mite allergens and airway mucosa. *Eur Respir J* 1997;10:719–26.
- [23] David B, Rabillon J, Goubran-Botros H. Allergènes : structure, fonctions. In: Vervloet D, Magnan A, editors. *Traité d'allergologie*. Paris, France: Médecine-Sciences Flammarion; 2003. p. 5–22.
- [24] Duez C. Caractéristiques non allergéniques des allergènes. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2008;48:143–6.
- [25] Wan H, Winton HL, Soeller C, et al. The transmembrane protein occluding of epithelial tight junctions is a functional target for serine peptidases from faecal pellets of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 2001;31:279–94.
- [26] Wan H, Winton HL, Soeller C, et al. Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest* 1999;104:123–33.
- [27] John RJ, Rusznak C, Ramjee M, et al. Functional effects of the inhibition of cysteine protease activity of the major house dust mite allergen Der p 1 by a novel peptide-based inhibitor. *Clin Exp Allergy* 2000;30:784–93.

- [28] Holgate ST, Roberts G, Arshad HS, et al. The role of the airway epithelium and its interaction with environmental factors in asthma pathogenesis. *Proc Am Thorac Soc* 2009;6:655–9.
- [29] Asokanathan N, Graham PT, Stewart DJ, et al. 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.
- [30] King C, Brennan S, Thompson PJ, et al. Dust mite proteolytic allergens induce cytokine release from cultured airway epithelium. *J Immunol* 1998;161:3645–51.
- [31] Chiu LL, Perng DW, Yu CH, et al. Mold allergen, pen C 13, induces IL-8 expression in human airway epithelial cells by activating protease-activated receptor 1 and 2. *J Immunol* 2007;178:5237–44.
- [32] Adam E, Hansen KK, Astudillo Fernandez O, et al. The house dust mite allergen Der p 1, unlike Der p 3, stimulates the expression of interleukin-8 in human airway epithelial cells via a proteinase-activated receptor-2-independent mechanism. *J Biol Chem* 2006;281:6910–23.
- [33] Pichavant M, Charbonnier AS, Taront S, et al. Asthmatic bronchial epithelium activated by the proteolytic allergen Der p 1 increases selective dendritic cell recruitment. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:771–8.
- [34] Knight DA, Lim S, Scaffidi AK, et al. Protease-activated receptors in human airways: upregulation of PAR-2 in respiratory epithelium from patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:797–803.
- [35] Schmidlin F, Amadesi S, Dabbagh K, et al. Protease-activated receptor 2 mediates eosinophil infiltration and hyperreactivity in allergic inflammation of the airway. *J Immunol* 2002;169:5315–21.
- [36] Takizawa T, Tamiya M, Hara T, et al. Abrogation of bronchial eosinophilic inflammation and attenuated eotaxin content in protease-activated receptor 2-deficient mice. *J Pharmacol Sci* 2005;98:99–102.
- [37] Asokanathan N, Graham PT, Fink J, et al. Activation of protease-activated receptor (PAR)-1, PAR-2, and PAR-4 stimulates IL-6, IL-8 and prostaglandin E2 release from human respiratory epithelial cells. *J Immunol* 2002;168:3577–85.
- [38] Kuderer NM, San Juan Vergare HG, Kong X, et al. Mite and cockroach proteases activate p44/p42 MAP kinases in human lung epithelial cells. *Clin Mol Allergy* 2003;1:1.
- [39] Adam E, Hansen KK, Astudillo-Fernandez O, et al. The house-dust mite allergen Der p 1, unlike Der p 3 stimulates the expression of interleukin-8 in human airway epithelial cells via a proteinase-activated-receptor-2-independent mechanism. *J Biol Chem* 2006;281:6910–23.
- [40] Machado DC, Horton D, Harrop R, et al. Potential allergens stimulate the release of mediators of the allergic response from cells of mast cell lineage in the absence of sensitization with antigen-specific IgE. *Eur J Immunol* 1996;26:2972–80.
- [41] Miike S, Kita H. Human eosinophils are activated by cysteine proteases and release inflammatory mediators. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:704–13.
- [42] Grunstein MM, Veler H, Shan X, et al. Proasthmatic effects and mechanisms of action of the dust mite allergen Der p 1, in airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:94–101.
- [43] Hewitt CR, Brown AP, Hart BJ. A major house dust mite allergen disrupts Immunoglobulin E network by selectively cleaving CD23: innate protection by antiproteases. *J Exp Med* 1995;182:1537–44.
- [44] Schulz O, Laing P, Sewell HF, et al. Der p 1, 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.
- [45] Takai T, Kato T, Ota M, et al. Recombinant Der p 2 and Der f 1 with in vitro enzymatic activity to cleave human CD23. CD25 and alpha1-antitrypsin, and in vivo IgE-eliciting activity in mice *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137:194–200.
- [46] Shakib F, Schultz O, Sewell H. Mite subversive cleavage of CD23 and CD25 by Der p 1 enhances allergenicity. *Immunol Today* 1998;19:313–6.
- [47] Schulz O, Sewell HF, Shakib F. Proteolytic cleavage of CD25, the alpha subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity. *J Exp Med* 1998;187:271–5.
- [48] Comoy EE, Pestel J, Duez C. The house dust mite allergen. *Dermatophagoides pteronyssinus*, promotes type 2 responses by modulating the balance between IL-4 and IFN-gamma. *J Immunol* 1998;160:2456–62.
- [49] Ghaemmaghami AM, Gough L, Sewell HF, et al. The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1468–75.
- [50] Hammad H, Charbonnier AS, Duez C, et al. Th2 polarization by Der p 1 pulsed monocyte-derived dendritic cells is due to the allergic status of the donors. *Blood* 2001;98:1135–41.
- [51] Kalsheker NA, Deam S, Chambers L, et al. The house dust mite allergen Der p1 catalytically inactivates alpha1-antitrypsin by specific reactive centre loop cleavage: a mechanism that promotes airway inflammation and asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:59–63.
- [52] Brown A, Farmer K, MacDonald L, et al. House dust mite Der p 1 downregulates defenses of the lung by inactivating elastase inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:381–9.
- [53] Deb R, Shakib F, Reid K, et al. Major house dust mite allergens *Dermatophagoides pteronyssinus* 1 and *Dermatophagoides farinae* 1 degrade and inactivate lung surfactant proteins A and D. *J Biol Chem* 2007;282:36808–19.
- [54] Stewart GA, Zhang J, Robinson C. The structure and function of allergens. In: Adkinson NF, Bochner B, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, Simons FE, editors. *Middleton's Allergy Principle and Practice*. 7th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2009. p. 569–608.
- [55] Heymann PW, Chapman MD, Aalberse RC, et al. Antigenic and structural analysis of group II allergen (Der f II and Der p II) from house dust mites (*Dermatophagoides* spp). *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:1055–67.
- [56] Smith W, Mills K, Hazell LA, et al. Molecular analyses of the group 1 and 2 allergens from the house dust mite *Euroglyphus maynei*. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;118:15–22.
- [57] O'Hehir RE, Verhoef A, Panagiotopoulou E, et al. Analysis of human T-cell responses to the group II allergen of *Dermatophagoides* species: localisation of major antigenic sites. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:105–13.
- [58] Lynch NR, Thomas WR, Chua Y, et al. In vivo biological activity of recombinant Der p 2 allergen of house dust mite. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105:70–4.
- [59] Derewenda U, Li J, Derewenda Z, et al. The crystal structure of a major dust mite allergen Der p 2, and its biological implications *J Mol Biol* 2002;318:189–97.
- [60] Trompette A, Divanovic S, Visintin A, et al. Allergenicity resulting from functional mimicry of a Toll-like receptor complex protein. *Nature* 2009;457:585–8.
- [61] Kim HM, Park BS, Kim JL, et al. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist eritoran. *Cell* 2007;130:979–81.
- [62] Inohara N, Nunez G. ML-A conserved domain involved in innate immunity and lipid metabolism. *Trends Biochem Sci* 2002;27:219–21.

- [63] Hammad H, Chieppa M, Perros F, et al. House dust mite allergen induces asthma via toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat Med* 2009;4:410–6.
- [64] Ichikawa S, Takai T, Yashiki T, et al. Lipopolysaccharides binding of the mite allergen Der f 2. *Genes Cells* 2009;14:1055–65.
- [65] Stewart GA, Ward LD, Simpson RJ, et al. The group III allergen from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* is a trypsin-like enzyme. *Immunology* 1992;75:29–35.
- [66] Smith WA, Chua KY, Kuo MC, et al. Cloning and sequencing of *Dermatophagoides pteronyssinus* group III allergen Der p III. *Clin Exp Allergy* 1994;24:220–8.
- [67] Sun G, Stacey MA, Schmidt M, et al. Interaction of mite allergens Der p 3 and Der p 9 with protease-activated receptor-2 expressed by lung epithelial cells. *J Immunol* 2001;167:1014–21.
- [68] Mills KL, Hart BJ, Lynch NR, et al. Molecular characterization of the group 4 house dust mite allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus* and its amylase homologue from *Euroglyphus maynei*. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;120:100–7.
- [69] Mills KL, Thomas WR, Smith W. Characterization of the group 4 allergens of the house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:S180.
- [70] Lin KL, Chua KY, Thomas WR, et al. Characterisation of Der p V allergen. cDNA analysis and IgE-mediated reactivity to the recombinant protein. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:989–96.
- [71] Weghofer M, Grote M, Dall'Antonia Y, et al. Characterization of folded recombinant Der p 5, a potential diagnostic marker allergen for house dust mite allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;147:101–9.
- [72] Arruda LK, Fernandez-Caldas E, Naspitz CK, et al. Molecular cloning of *Blomia tropicalis* allergen Blo t 5 and its sequence homology to D. pteronyssinus Der p 5. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:205.
- [73] Arruda LK, Vailes LD, Platts-Mills TAE, et al. Sensitisation to *Blomia tropicalis* in patients with asthma and identification of allergen Blo t 5. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:343–50.
- [74] Kauffman HF, Tamm M, Timmerman JA, et al. House dust mite major allergens Der p 1 and Der p 5 activate human airway-derived epithelial cells by protease-dependent and protease-independent mechanisms. *Clin Mol Allergy* 2006;4:5.
- [75] Yasueda H, Mita H, Shida T, et al. Allergens from *Dermatophagoides* with chymotryptic activity. *Clin Exp Allergy* 1993;23:384–90.
- [76] Shen HD, Lin WL, Tsai LC, et al. Characterization of the allergen Der f 7 from house dust mite extracts by species-specific and cross reactive monoclonal antibodies. *Clin Exp Allergy* 1997;27:824–32.
- [77] O'Neill G, Doovan 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.
- [78] Arruda LK, Vailes LD, Platts-Mills TAE, et al. Induction of IgE antibody responses by glutathione-S-transferase from the German cockroach (*Blattella germanica*). *J Biol Chem* 1997;272:20907–12.
- [79] Huang CH, Liew LM, Mah KW, et al. Characterization of glutathione-S-transferase from dust mite Der p 8 and its immunoglobulin E cross-reactivity with cockroach glutathione-S-transferase. *Clin Exp Allergy* 2006;36:369–76.
- [80] Lees-Miller JP, Helfman DM. The molecular basis for tropomyosin isoform diversity. *Bio-assays* 1991;13:429–37.
- [81] Reese G, Lehrer S. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;119:247–58.
- [82] Metz-Favre C, Ramé JM, Pauli G, et al. La tropomyosine: un panallergène. *Rev Fr Allergol* 2009;49:420–6.
- [83] Weghofer M, Thomas WR, Kronqvist M, et al. Variability of IgE reactivity profiles among European mite allergen patients. *Eur J Clin Invest* 2008;38:959–65.
- [84] Aki T, Kodama T, Fujikawa A, et al. Immunochemical characterization of recombinant and native tropomyosin as a new allergen from house dust mite. *Dermatophagoides farinae*. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:74–83.
- [85] Leung PS, Chen YC, Mykles DL, et al. Molecular identification of the lobster muscle protein tropomyosin as a seafood allergen. *Mol Marine Biol Biotechnol* 1998;7:12–20.
- [86] Leung PS, Chen YC, Gershwin ME, et al. Identification and molecular characterization of *Charybdis feriatus* tropomyosin, the major crab allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:847–52.
- [87] Reese G, Schick Tanz S, Lauer I, et al. Structural, immunological and functional properties of natural recombinant Pen a 1, the major allergen of Brown Shrimp, *Penaeus aztecus*. *Clin Exp Allergy* 2006;36:517–23.
- [88] Bessot JC, Metz-Favre C, Ramé JM, et al. Tropomyosin or not tropomyosin, what is the relevant allergen in house dust mite and snail cross allergies? *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2010;42:3–10.
- [89] Saarne T, Kaiser L, Rasool O, et al. Cloning and characterization of two IgE-binding proteins, homologous to tropomyosin and alpha-tubulin, from *Lepidoglyphus destructor*. *Int Arch Allergy Immunol* 2003;130:258–65.
- [90] Yi FC, Cheong N, Shek PCL, et al. Identification of shared and unique immunoglobulin E, epitopes of the highly conserved tropomyosin in *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1203–10.
- [91] Ayuso R, Reese G, Leong-Kee S, et al. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:38–48.
- [92] Asturias JA, Gomez-Bayon N, Arilla MC, et al. Molecular characterization of American cockroach tropomyosin (*Periplaneta Americana* Allergen 7) cross reactive allergen. *J Immunol* 1999;162:4342–8.
- [93] Jeong KY, Yum HY, Lee IY, et al. Molecular cloning and characterization of tropomyosin, a major allergen of *Chironomus kiiensis* a dominant species of nonbiting midges in Korea. *Clinical and Diagnostic laboratory Immunology* 2004;11:320–4.
- [94] Bartella B, Butteroni C, Puggioni EMR, et al. Immunological characterization of a recombinant tropomyosin from new indoor source. *Lepisma saccharina*. *Clin Exp Allergy* 2005;35:483–9.
- [95] Tsai L, Sun Y, Chao P, et al. Sequence analysis and expression of a cDNA clone encoding a 98-kDa allergen in *Dermatophagoides farinae*. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1606–13.
- [96] Ramos JD, Cheong N, Lee BW, et al. cDNA cloning and expression of Blo t 11, the *Blomia tropicalis* allergen homologous to paramyosin. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:286–93.
- [97] Ramos JD, Teo AS, Ou KL, et al. Comparative allergenicity studies of native and recombinant *Blomia tropicalis* Paramyosin (Blo t 11). *Allergy* 2003;58:412–9.
- [98] Caraballo L, Puerta L, Jimenez S, et al. 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.
- [99] Eriksson T, Whitley P, Johansson E, et al. Identification and characterization of two allergens from the dust-mite *Acarus siro* homologous with fatty acid-binding proteins. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;119:275–81.
- [100] Avarre JC, Lubzens E, Babin PJ. Apolipoprotein, formerly vitellogenin, is the major egg yolk precursor protein in decapod crustaceans and is homologous to insect apolipoprotein II/I and vertebrate apolipoprotein B. *BMC Evol Biol* 2007;7:3.

- [101] Nuttall TJ, Pemberton AD, Lamb JR, et al. Peripheral blood mononuclear cell responses to major and minor *Dermatophagoides* allergens in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2002;15:143–50.
- [102] McCall C, Hunter S, Stedman K, et al. Characterization and cloning of a major high molecular weight house dust mite allergen (Der f 15) for dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2001;78:231–47.
- [103] O'Neil SE, Heinrich TK, Hales BJ, et al. The chitinase allergen Der p 15 and Der p 18 from *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 2006;36:831–9.
- [104] Tategaki A, Kawamoto S, Ski T. Newly described house dust mite allergens. *ACI Int* 2000;Suppl. 1:74–6.
- [105] Hales BJ, Martin AC, Pearce LJ, et al. IgE and IgG anti-house dust mite specificities in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:361–7.
- [106] Weghofer M, Dall'Antonia Y, Grote M, et al. Characterization of Der p 21 a new important allergen derived from the gut of house dust mite. *Allergy* 2008;63:758–67.
- [107] Chew FT, Reginald K, Tan CL, et al. Der f 22: a novel allergen from *Dermatophagoides farinae* that is encoded by a gene paralogous to Der f 2. *J Allergy Clin Immunol* 2009;12:1451–4.
- [108] Caraballo L, Puerta L, Martinez B, et al. Identification of allergens from the mite *Blomia tropicalis*. *Clin Exp Allergy* 1994;24:1050–60.
- [109] Mora C, Flores I, Montealegre F, et al. Cloning and expression of Blo t 1, a novel allergen from the dust mite *Blomia tropicalis*, homologous to cysteine proteases. *Clin Exp Allergy* 2003;33:28–34.
- [110] Chew FT, Yi FC, Chua KY, et al. Allergenic differences between the domestic mite *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 1999;29:982–8.
- [111] Arruda LK, Vailes LD, Platts-Mills TAE, et al. Sensitization to *Blomia tropicalis* in patients with asthma and identification of Blo t 5. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:343–50.
- [112] King TP, Spangort MD. Structure and biology of stinging insects venom allergen. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:99–106.
- [113] Ferrandiz R, Dreborg S. Analysis of individual cross-reacting allergens between *Dermatophagoides siboney* and other mites by immunoblot inhibition. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:238–9.
- [114] Kemp SF, Lockey RF, Fernandez-Caldas E, et al. Skin test and crossreactivity studies with *Euroglyphus maynei* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 1997;27:893–7.
- [115] Arlian LG, Rapp CM, Fernandez-Caldas E. Allergenicity of *Euroglyphus maynei* and its cross-reactivity with *Dermatophagoides* species. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:1051–8.
- [116] Hill MR, Newton MR, Hart BJ. Comparative IgE responses to extracts of five species of house dust mite, using Western blotting. *Clin Exp Allergy* 1993;23:110–6.
- [117] Kent NA, Hill MR, Keen JN, et al. Molecular characterization of group 1 allergen Eur m 1 from house dust mite *Euroglyphus maynei*. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;99:150–2.
- [118] Hales BJ, Thomas WR. T-cell sensitization to epitopes from the house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Euroglyphus maynei*. *Clin Exp Allergy* 1997;27:868–75.
- [119] van Hage-Hamsten M, Johansson SG, Hoglund S, et al. Storage mite allergy is common in a farming population. *Clin Allergy* 1985;15:555–64.
- [120] Arias-Irigoyen J, Lombardero M, Arteaga C, et al. Limited IgE cross-reactivity between *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Glycyphagus destructor* in patients naturally exposed to both mite species. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:98–104.
- [121] Vidal C, Boquet O, Gude F, et al. High prevalence of storage mite sensitization in a general adult population. *Allergy* 2004;59:401–5.
- [122] Gudiel HA, Gudiel HJ, Tincopa AL, et al. Etude des sensibilisations aux aéroallergènes chez le enfants asthmatiques âgés de plus de trois ans et habitant dans la zone Nord de Lima (Pérou). *Rev Fr Allergol* 2009;49:403–9.
- [123] Johansson E, Borga A, Johansson SG, et al. Immunoblot multi-allergen inhibition studies of allergenic cross-reactivity of the dust mites *Lepidoglyphus destructor* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 1991;21:511–8.
- [124] 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.
- [125] Arlian LG, Geis DP, Vysenki-Moher DL, et al. Cross antigenic and allergenic properties of the house dust mite *Dermatophagoides farinae* and the storage mite *Tyrophagus putrescentiae*. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:172–9.
- [126] O'Brien RM, Thomas WR. Immune reactivity to Der p 1 and Der p II in house dust mite sensitive patients attending pediatric and adult allergic clinics. *Clin Exp Allergy* 1994;24:737–42.
- [127] Shibasaki M, Itoyaka S, Takita H. Influence of age on IgE responsiveness to *Dermatophagoides farinae*: an immunoblot study. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;103:53–8.
- [128] Östling J, Mattsson L, Lundgren T, et al. Prevalence of specific IgE to natural house dust mite extracts and rDer p 1, rDer p 2, rDer f 1, rDer f 2, rDer f 7 in Spanish and Japanese mite allergic subjects. *Allergy* 2008;63:555–6.
- [129] Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, et al. Component-resolved diagnosis of house dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clin Exp Allergy* 2004;34:597–603.
- [130] Potter P, Fenimore B, Tovey E, Gattuso J, Hiller R, Krammer D, et al. IgE binding profile against major recombinant dust mite allergens among atopic individuals from Cape Town (South Africa), Sydney (Australia), Vienna (Austria) and Singapore. Vienna Austria: European Academy of Allergology and Clinical Immunology; 2006 [51 Abst].
- [131] Hales BJ, Laing IA, Pearce LJ, et al. Distinctive immunoglobulin E anti-house dust allergen binding specificities in a tropical Austrian Aboriginal community. *Clin Exp Allergy* 2007;37:1357–63.
- [132] Westritschnig K, Sibanda E, Thomas W, et al. Analysis of the sensitization profile allergens in Central Africa. *Clin Exp Allergy* 2003;33:22–7.
- [133] Jimenez S, Puerta L, Mendoza D, et al. IgE antibody responses to recombinant allergens of *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in a tropical environment. *J World Allergy Org* 2008;19:233–8.
- [134] Arruda LK, Jorge PPO, Toledo EC, et al. Recombinant allergens for diagnosis of mite and cockroach allergy in Brazilian children. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:S177.
- [135] Van der Zee JS, Van Swieten P, Jansen HM, et al. Skin tests and histamine release with P1-depleted *Dermatophagoides pteronyssinus* body extracts and purified P1. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:884–95.
- [136] Bischoff E, Schirmacher W. Farbnachweis für allergenhaltigen Hausstaub. *Allergologie* 1984;11:446–9.
- [137] Pauli G, Hoyet C, Tenabene A, et al. Guanine and mite allergenicity in house-dust. *Clin Allergy* 1988;18:383–92.
- [138] Quiox E, Le Mao J, Hoyet C, et al. Prediction of mite allergen levels by guanine measurements in house-dust samples. *Allergy* 1993;48:306–9.
- [139] Haouichat H, Pauli G, Ott M, et al. Réévaluation de l'Acarex-test dix ans après. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2000;40:783–92.
- [140] Knies FM. Rapid house dust mite (*Acari: Pyroglyphidae*) and storage mite (*Acari: Glycyphagidae* and *Acaridae*) allergen tests. *J Med Entomol* 1995;32:195–6.
- [141] Kort HS, Schober G, Koren LG, et al. Mould-devouring mites differ in guanine excretion from dust-eating *Acari*, a possible

- error source in mite allergen exposure studies. *Clin Exp Allergy* 1997;27:921–5.
- [142] Luczynska CL, Arruda LK, Platts-Mills TAE, et al. A two-site monoclonal antibody ELISA for the quantification of the major *Dermatophagoides* spp-allergens Der p 1 and Der f 1. *J Immunol Methods* 1989;118:227–35.
- [143] Harfast B, Johansson E, Johansson SGO, et al. ELISA method for detection of mite allergens in barn dust: comparison with mite counts. *Allergy* 1996;51:257–61.
- [144] Parvaneh S, Johansson E, Elfman LH, et al. 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.
- [145] Yi FC, Lee BW, Cheong N, et al. Quantification of Blo t 5 in mite and dust extracts by two-site ELISA. *Allergy* 2005;60:108–12.
- [146] Pate AD, Hamilton RG, Ashley PJ, et al. Proficiency testing of allergen measurements in residential dust. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:844–50.
- [147] Earle CD, King EM, Tsay A, et al. High-throughput fluorescent multiplex array for indoor allergen exposure assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:428–33.
- [148] Tsay A, Williams L, Mitchell EB, et al. A Rapid-test for detection of mite allergens in homes. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1596–601.
- [149] Lau S, Schulz G, Sommerfeld C, et al. Comparison of quantitative ELISA and semiquantitative Dustscreen for determination of Der p 1, Der f 1, and Fel d 1 in domestic dust samples. *Allergy* 2001;56:993–5.
- [150] Mistrello G, Gentili M, Roncarolo D, et al. Dot immunobinding assay for detection of mite antigens in house-dust samples. *J Med Entomol* 1998;35:143–7.
- [151] Pauli G. Allergènes recombinants et immunothérapie. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2007;47:133–8.
- [152] Hoyne GFR, O'Hehir DC, Wraith WR, et al. Inhibition of T cell and antibody responses to house dust mite allergen by inhalation of the dominant T cell epitope in naïve and sensitized mice. *J Exp Med* 1993;178:1783–8.
- [153] Liu YH, Kao MC, Lai YL, et al. Efficacy of local nasal immunotherapy for Dp2-induced airway inflammation in mice: using Dp2 peptide and fungal immunomodulatory peptide. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:301–10.
- [154] Takai T, Mori A, Yuuki T, et al. Non-anaphylactic combination of partially deleted fragments of the major house dust mite allergen Der f 2 for allergen-specific immunotherapy. *Mol Immunol* 1999;36:1055–65.
- [155] Gafvelin G, Parmley S, Neimert-Andersson T, et al. Hypoallergens for allergen-specific immunotherapy by directed molecular evolution of mite groupe 2 allergens. *J Biol Chem* 2007;282:3778–87.
- [156] Chen KW, Fuchs G, Sonneck K, et al. Reduction of the in vivo allergenicity of Der p 2, the major house-dust mite allergen, by genetic engineering. *Mol Immunol* 2008;45:2486–98.
- [157] Asturias JA, Ibarrola I, Arilla MC, et al. Engineering of major house dust mite allergens Der p 1 and Der p 2 for allergen-specific immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2009;39:1088–98.