

ÉLEVAGE DES ACARIENS DE LA POUSSIÈRE DOMESTIQUE ET RECHERCHE DES ANTICORPS PRÉCIPITANTS ANTI-POUSSIÈRE ET ANTI-ACARIENS, PAR IMMUNODIFFUSION EN GÉLOSE

Par

A. ARAUJO-FONTAINE, M. WAGNER, G. MOREAU et A. BASSET
(Strasbourg)

VOORHORST, SPIEKSMABOZEMAN et SPIEKSMAS constatèrent, les premiers, l'abondance des acariens de l'espèce *Dermatophagoides pteronyssinus* dans les poussières domestiques [15]. Ils démontrèrent dès 1964, par des corrélations statistiques, que dans les poussières de maison, un rôle allergénique, ubiquitaire et dominant, revenait à cette espèce [14, 16].

Depuis 1965 [1 à 5] nous avons entrepris l'étude des allergies à la poussière et nous avons pu confirmer cette découverte. Par ailleurs, nous avons cherché et mis en évidence des anticorps précipitants anti-poussière et anti-acarien, dans le sérum des lapins sensibilisés expérimentalement et dans le sérum des sujets allergiques à la poussière. Des analyses biologiques des poussières domestiques et d'élevage des acariens ont été effectuées. Nous exposerons ici, les techniques et les résultats.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nos recherches ont été dirigées dans trois directions, à savoir :

- Élevage des acariens.
- Préparation des antigènes à partir des acariens.
- Recherche des anticorps correspondants chez l'animal sensibilisé et chez les malades allergiques à la poussière et présentant les traits de l'atopie.

ÉLEVAGE DES ACARIENS DE LA POUSSIÈRE DOMESTIQUE.

L'élevage des acariens de la poussière domestique comporte deux étapes, l'analyse biologique des poussières, et l'élevage proprement dit.

Analyse biologique des poussières :

50 échantillons de poussière provenant des maisons des sujets présentant une allergie à celle-ci, ont été analysés selon la technique suivante : le malade apporte 30 à 40 grammes minimum des poussières prélevées à l'aide d'un aspirateur, provenant de la chambre à coucher et de la salle de séjour. De ces 40 g, 5 g sont destinés à l'analyse. Ils sont d'abord tamisés à une vitesse de 125 r/mn pendant une heure à l'aide d'un mixer portant deux tamis (dont les mailles sont de 2,4 et 0,075 mm de diamètre respectivement). Les poussières ainsi tamisées sont traitées à l'acide lactique à 90 p. cent. Le mélange est porté à ébullition et ensuite distribué dans 8 tubes à centrifugation. Le mélange est centrifugé 5 mn à 1 500 r/mn. Le surnageant des 8 tubes est mis dans un Erlenmeyer et ensuite filtré à vide sur papier filtre ordinaire. Le culot des 8 tubes est remis en suspension dans une solution de CINA 9 p. mille, on agite pour bien mélanger, puis on centrifuge et on filtre de la même façon. L'opération est répétée 3 fois. Les acariens restent sur le papier filtre. Sous la loupe binoculaire et à l'aide d'une aiguille montée, on les prélève un par un, en les comptant. Ils sont déposés sur une lame à concavité contenant 2 gouttes d'acide lactique. Une fois la lame montée, les acariens seront identifiés au microscope optique. On détermine ainsi le nombre total des acariens et le pourcentage des différentes espèces.

Elevage proprement dit :

Les 40 g de poussière ainsi analysés et qui ont montré un grand nombre d'acariens (plus de 100 par g), sont mis dans une grande boîte de Petri placée ensuite dans un cristalliseur où la température a été menée à 26° C et l'humidité relative de l'air portée à 80 p. cent par une solution hypersaturée de chlorure d'ammonium. Ils y resteront 3 à 4 mois. Un contrôle est effectué chaque semaine pour enlever les prédateurs. Au bout de 4 mois, les acariens ayant proliféré seront prélevés vivants sous la loupe binoculaire à l'aide d'une aiguille montée, et transportés dans leur milieu nutritif, spécifique pour chaque espèce.

Le milieu nutritif diffère d'une espèce à l'autre. Ainsi, pour les *D. pteronyssinus*, on utilise de la poudre de squames humaines (*), pour les *Glyciphagus destructor* de la farine de seigle, pour les *Tyrophagus putrescentiae* du lait en poudre, pour d'autres, des aliments pour chiens. Tous les milieux sont additionnés de levure : *Saccharomyces cerevisiae*, à parties égales (150 mg de chaque). Dans chaque cristalliseur seront alors placés 3 ou 4 centaines d'acariens. Les boîtes seront ensuite placées dans des cristalliseurs où le microclimat propice aux acariens a été créé. Au bout d'un mois et demi, deux mois, lorsque le nombre des acariens est de l'ordre de 1 400 à 1 800 par cristalliseur, les élevages sont prêts pour la préparation des extraits.

PRÉPARATION DES ANTIGÈNES A PARTIR DES ACARIENS.

Pour l'extrait de *D. pteronyssinus*, nous avons suivi la technique mise au point par VOORHORST et SPIEKMA à Leiden : les acariens (avec leur milieu nutritif) sont

(*) La poudre de squames humaines est préparée à partir de cheveux collectés chez le coiffeur pour hommes.

chauffés à 60° C pendant 6 heures pour les tuer, 100 mg de l'élevage ainsi desséché sont placés, afin d'obtenir une concentration à 1 p. cent, dans une solution tampon à pH 6,8 dont la composition est la suivante :

Na H ₂ PO ₄ 2H ₂ O	4,37 g
Na ₂ H PO ₄ 2H ₂ O	4,98 g
NaCl	3,80 g
Phénol	5,00 g
Eau distillée	ad 1 000 ml

Cette solution est mise en agitation magnétique permanente pendant 24 heures à la température de laboratoire. Ensuite elle est filtrée sur papier filtre ordinaire, puis stérilisée par filtration bactériologique.

La solution ainsi obtenue sera ensuite utilisée pour intradermo-réaction aux dilutions : 1/100 000, 1/1 000 000, 1/ 10 000 000.

Pour d'autres espèces (*G. destructor*, *T. putrescentiae*), le milieu nutritif étant différent (farine de seigle, lait en poudre), des méthodes de lavage s'imposaient pour éliminer le milieu, car on éliminait ainsi les antigènes métaboliques. De ce fait, les extraits de différentes espèces d'acariens étaient difficilement comparables. Nous avons contourné cette difficulté en élevant ces espèces sur le même milieu que les *Dermatophagoides pteronyssinus*. L'expérience ayant réussi, nous pouvons actuellement obtenir des extraits plus facilement comparables.

Pour comparer notre extrait antigénique acarien, on a employé d'une part un extrait antigénique total de poussière de maison préparé selon une méthode détaillée dans un autre travail [1], et d'autre part l'antigène de poussière de maison produit par l'Institut Pasteur à une concentration de 1/500.

RECHERCHE DES ANTICORPS CORRESPONDANTS CHEZ L'ANIMAL SENSIBILISÉ ET CHEZ LES MALADES ALLERGIQUES A LA POUSSIÈRE ET PRÉSENTANT LES TRAITS DE L'ATOPIE.

Les sérums de 12 lapins sensibilisés expérimentalement selon la méthode décrite dans un article antérieur [4].

Les sérums de 120 sujets parmi les 390 patients allergiques à la poussière que nous avons étudiés. Il s'agit de malades présentant les traits caractéristiques de l'atopie : antécédents héréditaires, poly-sensibilisation, troubles vasomoteurs.

A ce but, il a été utilisé la méthode d'OUCHTERLONY modifiée par HARTMANN et TOILLIEZ [9]. Une protéine C réactive éventuelle est systématiquement éliminée en trempant les lames dans une solution de citrate de sodium à 5 p. cent pendant 24 heures. Après lavage et dessiccation, les lames sont colorées au noir amide selon la technique de SCHEIDEGGER [13].

RÉSULTATS

ELEVAGE DES ACARIENS.

Sur les 50 échantillons de poussière analysée, nous avons trouvé une population d'acariens essentiellement composée de *Dermatophagoides pteronyssinus*, de *Glyciphagus destructor*, de *Tyrophagus putrescentiae* et accessoirement de *Dermatopha-*

goides farinæ, *Euroglyphus maynei*, *Chortoglyphus arcuatus*, *Klemania plumigera*, *Goheria*, *Sturnophagoides bresiliensis* Fain [7, 8, 10].

Nous avons pu isoler en élevage trois espèces : *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Glyciphagus destructor* et *Tyrophagus putrescentiae*. Nous avons trouvé un pourcentage particulièrement élevé, 97 p. cent, de *Dermatophagoides pteronyssinus* dans les poussières provenant de matelas de nos malades.

RECHERCHE DES ANTICORPS CORRESPONDANTS CHEZ L'ANIMAL SENSIBILISÉ ET CHEZ LES MALADES ALLERGIQUES A LA POUSSIÈRE PAR IMMUNODIFFUSION EN GÉLOSE.

La réaction, extrait de poussière totale (5 p. cent) contre le sérum de lapin sensibilisé à la poussière, a montré la formation de bandes de précipitation en nombre variable : une, deux, parfois plus. De la réaction, extrait de poussière totale contre le sérum humain, il n'a résulté en général qu'un seul (parfois deux) trait de précipitation, d'intensité variable d'un sérum à l'autre, selon le taux d'anticorps.

Avec l'extrait de poussière de l'Institut Pasteur à 1/500, nous avons obtenu, vis-à-vis de sérums humains, des résultats semblables, c'est-à-dire un ou deux traits de précipitation, mais de plus faible intensité. Puis nous avons pratiqué la réaction : extrait de *Dermatophagoides pteronyssinus* contre l'immun-sérum anti-poussière. Il nous a fallu de nombreux essais avant d'obtenir l'équilibre antigène-anticorps, réalisé enfin avec un antigène concentré à 5 p. cent d'abord, puis ajusté à 1 p. cent. Nous avons alors mis en présence de l'immun-sérum anti-poussière d'une part l'extrait de poussière et d'autre part l'extrait de *Dermatophagoides pteronyssinus*. Les bandes de précipitation obtenues furent symétriques et continues. Les mêmes images ont été obtenues en faisant réagir ces deux antigènes avec le sérum des malades allergiques (fig. 1 à 3).

DISCUSSION

Ainsi, nous avons mis en évidence des anticorps précipitants chez le lapin sensibilisé et chez des malades allergiques à la poussière domestique et qui présentaient des tests cutanés positifs à la poussière et aux acariens, en particulier aux *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Nous avons contrôlé nos résultats par l'épreuve suivante : si un mélange, à parties égales, d'immun-sérum et d'extrait de poussière est mis en diffusion contre l'extrait de poussière, il n'apparaît pas de bandes de précipitation. La même épreuve est réalisée avec l'extrait d'acariens et avec le sérum humain. Par ailleurs, nos sérums ont été testés avec d'autres allergènes parmi lesquels certains étaient bactériens, fongiques, parasitaires, avec des résultats négatifs.

Si la signification physiopathologique des anticorps précipitants dans le sérum de ces malades nous échappe encore, la constatation de leur présence seulement dans le sérum de ces sujets allergiques nous semble fort significative.

Ces malades sont soumis à une exposition prolongée et répétée aux allergènes puisque les acariens sont nombreux dans la literie, en particulier l'espèce *Dermatophagoides pteronyssinus*.

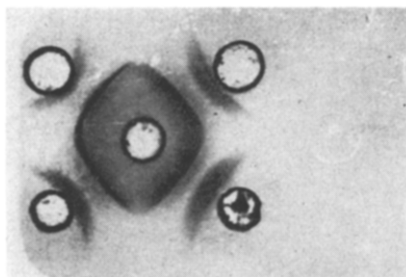


FIG. 1. — Dans le réservoir central, l'immun-sérum anti-poussière : dans les réservoirs périphériques, l'extrait de poussière à 5 p. cent.

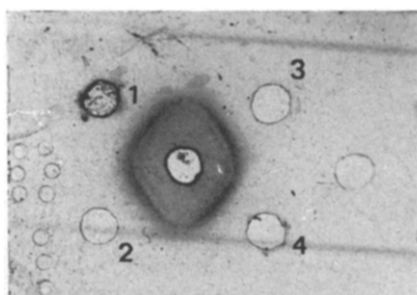


FIG. 2. — Au centre le sérum humain (provenant d'un malade allergique à la poussière). 1 et 4 : extrait de poussière à 5 p. cent ; 2 et 3 : extrait de *Dermatophagoides pteronyssinus* à 1 p. cent.

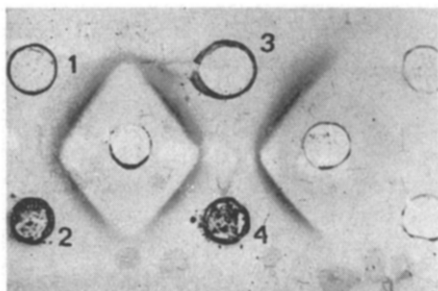


FIG. 3. — Réservoirs centraux : immun-sérum anti-poussière. 1 et 3 : extraits de poussière à 5 p. cent ; 2 et 4 : extrait de *Dermatophagoides pteronyssinus* à 1 p. cent.

Cette particularité d'exposition, pourrait entraîner des modes différents de réaction chez les atopiques. Ceux-ci présentant classiquement des réactions de type immédiat (Type I de la classification de GELL et COOMB) dans lesquelles interviennent les réagines. Ces anticorps précipitants observés chez nos malades, pourraient être responsables d'un type d'hypersensibilité semi-retardée se rapprochant du phénomène d'Arthus.

Ce type de réaction a été observé à l'occasion des tests cutanés et des épreuves d'inhalation (dont les résultats seront exposés dans un autre travail) lors desquels après une réaction de type immédiat, apparaît quelques heures plus tard (4 à 6 heures) une réaction de type semi-retardé. Il serait donc possible que les deux types de réactions puissent apparaître intriqués ou associés chez l'atopique.

A ce propos, il nous paraît utile de signaler les intéressants travaux de PARISH [11]. Cet auteur a isolé une fraction apparemment pure de IgG dans des sérums humains. Cette fraction contiendrait des anticorps capables de conférer une sensibilisation cutanée anaphylactique. Ceci suggère encore d'autres possibilités.

Par ailleurs, PEPYS [12] signale le fait frappant, que tant chez l'homme que chez l'animal d'expérimentation, des réactions semi-retardées peuvent être dépendantes de ou précédées par des réactions de type immédiat.

Néanmoins, la signification exacte de ces anticorps précipitants, dans le sérum de ces sujets allergiques, reste à préciser. Il serait intéressant en effet, de déterminer leur moment d'apparition, leur évolution, leur corrélation avec le taux des IgE, pour pouvoir déterminer leur rôle exact : anticorps responsables d'une allergie semi-retardée ou simple épiphénomène.

Quant à l'élevage des acariens de la poussière domestique, nous pensons, que les extraits préparés à partir des différentes espèces isolées, nous permettront à l'avenir de mieux déterminer le rôle allergénique, revenant à chaque espèce.

CONCLUSIONS

De nos analyses biologiques de poussières domestiques, il ressort que les espèces d'acariens les plus fréquemment retrouvées en Alsace sont : *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Glyciphagus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*. Les poussières de matelas contiennent les plus hauts pourcentages d'acariens, en particulier de *D. pteronyssinus*.

La symétrie et la continuité des bandes de précipitation obtenues en faisant réagir l'extrait de poussière domestique et l'extrait de *D. pteronyssinus* contre l'immun-sérum anti-poussière ou le sérum de malades nous semble une preuve de plus de l'existence d'une fraction antigénique commune.

[Travail de la Clinique dermatologique (Directeur : Pr A. BASSET) et de l'Institut de Parasitologie (Directeur : Pr J. CALLOT), C.H.U., 67-Strasbourg].

RÉSUMÉ

Les auteurs exposent leurs travaux concernant le rôle antigénique des acariens de la poussière domestique.

L'analyse biologique de ces poussières a montré que les espèces d'acariens les plus fréquentes en Alsace sont *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Glyciphagus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*. Ces trois espèces ont été isolées en élevage. Les antigènes préparés à partir de celles-ci ont rendu possible la recherche de précipitines dans le sérum de lapins sensibilisés et dans le sérum humain.

Une similitude antigénique entre l'allergène poussière et l'allergène acarien est démontrée par la méthode d'immunodiffusion en gélose.

Les auteurs attirent l'attention sur la possibilité de coexistence de précipitines et de réagines, chez des malades présentant les traits caractéristiques de l'atopie.

SUMMARY

BREEDING OF ACARIANS PRESENT IN DOMESTIC DUST AND ASSAY
OF DUST AND ACARIAN PRECIPITATING ANTIBODIES USING
THE AGAR IMMUNODIFFUSION TECHNIQUE

Antigenicity of Acarians present in domestic dust has been investigated by the authors.

Biological analysis of this type of dust has shown *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Glyciphagus destructor* and *Tyrophagus putrescentiae* to be the commonest Acarian species in Alsace. All three species have been isolated and bred. It was thus possible to prepare antigens and to assay precipitins in sera of sensitized rabbits as well as in human sera.

An antigenic similarity of the dust allergen and the Acarian allergen could be demonstrated using the agar immunodiffusion technique. Attention has been drawn by the authors on a possible coexistence of precipitins and reagins in patients presenting with characteristic features of atopy.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARAUJO A., FOUSSEREAU J., HIETTER G., BASSET A. — Intérêt des poussières apportées par les malades dans le diagnostic des allergies. *Bull. Soc. Fr. Derm. Syph.*, 1967, 74, 41-44.
2. ARAUJO A., CALLOT J., BASSET A. — Rôle des acariens dans les allergies aux poussières. Note préliminaire. *Bull. Soc. Fr. Derm. Syph.*, 1968, 75, 696-697.
3. ARAUJO-FONTAINE A., FOUSSEREAU J., MALEVILLE J., BASSET A. — Mise en évidence d'anticorps sériques anti-poussières domestiques chez les atopiques, leur évolution au cours de la désensibilisation spécifique. *Bull. Soc. Fr. Derm. Syph.*, 1970, 77, 123-125.
4. ARAUJO-FONTAINE A., BASSET A., CALLOT J., WAGNER M., FOUSSEREAU J. — Anticorps sériques anti-poussières dans l'atopie. Rôle antigénique des acariens des poussières domestiques. Mise en évidence d'une similitude antigénique et certaines espèces d'acariens. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1970, 164, 2650-2654.
5. BASSET A., HEID E., SCHUBERT B., FONTAINE A. — Acquisitions récentes dans l'exploration de l'allergie en Dermatologie. *Rev. C.H.U.*, 1969, 63-66.
6. FAÏN A. — Nouvelle description de *Dermatophagoides pteronyssinus*. Importance de cet acarien en pathologie humaine. *Acarologia*, 1966, 8, 302-327.
7. FAÏN A. — Allergie respiratoire produite par un acarien (*Dermatophagoides pteronyssinus*) vivant dans les poussières d'habitation. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.*, 1966, 7, 479-499.

8. FAIN A. — Le genre *Dermatophagoides*. Son importance dans les allergies respiratoires et cutanées chez l'homme. *Acarologia*, 1967, 9, 179-225.
9. HARTMANN L., TOILLIEZ M. — Microméthode d'étude en gélose de la réaction antigène-anticorps (variante du procédé d'Ouchterlony). *Rev. Franç. Etud. clin. biol.*, 1957, 2, 197-199.
10. HUGHES A. M. — The mites of stored food. Technical bulletin. Her Majesty's Stationery office London, 1967.
11. PARISH W. E. — Short term anaphylactic IgG antibody in human sera. *Lancet*, 1970, 2, 591.
12. PEPYS J. — Hypersensitivity disease of the lungs due to fungi and organic dust. *Monographs in Allergy*. Basel, New York, Karger, 1969.
13. SCHEIDEGGER J. — Une microméthode d'immuno-électrophorèse. *Int. Arch. Allergy*, 1955, 7, 103-110.
14. SPIEKSMAN F. Th., VOORHORST R. — Comparison of skin reactions to extracts of house dusts, mites and human scales. *Acta allerg. (Kbh.)*, 1969, 24, 124-146.
15. VOORHORST R., SPIEKSMAN-BOZEMAN M. I. A., SPIEKSMAN F. Th. — Is a mite (*Dermatophagoides sp.*) the producer of the house dust allergen (preliminary report). *Allergie Asthma*, 1964, 10, 329-331.
16. VOORHORST R., SPIEKSMAN F. Th., VAREKAM P. H. — *House dust atopy and the house dust mite* Stafleu's. Leiden, Stafleu's Scientific publishing Company, 1969.