



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Estudio de la acarofauna del polvo doméstico y su relación con las atopías humanas

Montserrat Portús Vinyeta

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

R.474.485

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

ESTUDIO DE LA ACAROFUNA DEL POLVO DOMESTICO Y SU RE-
LACION CON LAS ATOPIAS HUMANAS .

Memoria presentada para
aspirar al Grado de Doc-
tor en Farmacia.

Montserrat Fortús Vinyeta

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700083832

A mi padre

Quiero expresar mi más profunda gratitud al Prof. Dr. D. Jaime Gállego Berenguer, Catedrático de Parasitología de la facultad de Farmacia de Barcelona, por haber aceptado la dirección de la presente Tesis doctoral, haberme iniciado en la investigación y haber guiado mis pasos por el campo de la Acarología.

Mi agradecimiento igualmente al Dr. D. Ramón Alemany por haberme sugerido el tema de esta Tesis; al Dr. D. Francisco Muñoz, Jefe del Servicio de Inmunología y Alergia de la Escuela de Pediatría del Hospital Clínico de Barcelona, por su gentileza al permitirme disponer de sus pacientes para la realización de pruebas cutáneas, así como por sus consejos y constante apoyo; a Dña. Carmen Blasco Sabio, Prof. Ayudante de nuestra Cátedra, por su colaboración en todo el trabajo de investigación desarrollado; al Dr. D. Luis Hernandez, de los Laboratorios Ferrer, S. A. de Barcelona, por la liofilización de los extractos; al Dr. A. M. Cunningham, del Pest Infestation Control Laboratory de Slough (Inglaterra), por la inestimable ayuda prestada, tanto en mi estancia en dicho centro como posteriormente, en cuanto a la enseñanza de las técnicas de cultivo y a la clasificación de algunas especies; a la Dra. V. Holforn-Stevens, del Brompton Hospital de Londres, por sus consejos referentes a la preparación de extractos antigénicos;

al Dr. D. R. Canela, Prof. Adjunto de Higiene de esta Facultad, por la esterilización de dichos extractos; al Director de la Cátedra de Farmácia Galénica y al personal de la misma por su amabilidad al permitirnos el uso de un tamizador de vibración circular sin rotación, para efectuar el tamizaje de las muestras durante toda la experiencia.

Tampoco puedo olvidar a todos mis compañeros que forman parte del personal de la Cátedra, cuya colaboración ha significado y significa para mí un verdadero estímulo para seguir adelante en las investigaciones iniciadas.

A ellos, y a todos los que de una forma u otra hayan contribuido a la elaboración de este trabajo, deseo manifestarles mi más sincero agradecimiento.

I N D I C E

	Pag.
1. <u>INTRODUCCION</u>	1
1.1. <u>EL ALERGENO DEL POLVO DOMESTICO</u>	1
1.2. <u>ACAROS DEL POLVO DOMESTICO</u>	6
1.2.1. FRECUENCIA Y DENSIDAD.....	6
1.2.2. COMPOSICION · DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO.....	7
1.2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPO- SICION CUALI Y CUANTITATIVA DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO....	18
1.2.3.1. <u>Humedad relativa</u>	18
1.2.3.2. <u>Temperatura</u>	19
1.2.3.3. <u>Alimento</u>	20
1.2.3.4. <u>Microhabitat</u>	22
1.2.3.5. <u>Presencia de depredadores</u>	24
1.2.3.6. <u>Epoca del año</u>	25
1.2.3.7. <u>Situación geográfica</u>	26

	Pag.
1.3. <u>INFLUENCIA DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO EN LA COMPOSICION DEL ALERGENO DEL POLVO</u>	28
1.3.1. PAPEL QUE REPRESENTA <u>D. pteronyssinus</u> .	29
1.3.2. PAPEL QUE REPRESENTAN LAS DEMAS ESPECIES DE <u>Pyroglyphidae</u>	31
1.3.3. PAPEL QUE REPRESENTAN OTROS GRUPOS DE ACAROS.....	32
1.4. <u>JUSTIFICACION DE ESTE TRABAJO</u> ::::::.....	34
1.5. <u>ESQUEMA DEL TRABAJO</u>	37

	Pag
2. <u>MATERIAL Y METODOS</u>	40
2.1. <u>ESTUDIO Y DESARROLLO DE UN METODO PRACTICO EXPERIMENTAL PARA LA SEPARACION, IDENTIFICACION Y RECuento DE LOS ACAROS DEL POLVO</u>	40
2.2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	40
2.1.2. DESARROLLO DE UN METODO ORIGINAL.....	48
2.1.2.1. <u>Consideraciones previas</u>	48
2.1.2.2. <u>Descripción del método</u>	49
2.1.2.3. <u>Valor de la técnica utilizada</u>	54
2.1.3. CONSERVACION, MONTAJE E IDENTIFICACION DE LOS ACAROS.....	57
2.1.3.1. <u>Conservación</u>	57
2.1.3.2. <u>Montaje</u>	57
2.1.3.3. <u>Identificación</u>	58
2.2. <u>CULTIVO DE LOS ACAROS.Y.ESPECIES.CULTIVADAS</u>	63
2.2.1. REGULACION DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES DE HUMEDAD Y TEMPERATURA.....	65
2.2.1.1. <u>Antecedentes</u>	65
2.2.1.2. <u>Regulación de la temperatura y humedad relativa en nuestros cultivos</u>	68

	Pag.
2.2.2. ELECCION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y RESULTADOS OBTENIDOS.....	69
2.2.2.1. <u>Antecedentes</u>	69
2.2.2.2. <u>Medios de cultivo ensayados</u>	72
2.2.2.3. <u>Inoculación de los ácaros al medio</u>	77
2.2.2.4. <u>Mantenimiento de los cultivos</u>	79
2.2.2.5. <u>Cálculo del factor de crecimiento</u> .	80
2.2.2.6. <u>Resultados</u>	86
2.2.2.7. <u>Conclusiones</u>	89
2.2.3. OBTENCION DE STOCKS DE CULTIVO PARA LA POSTERIOR PREPARACION DE EXTRACTOS ANTIGENICOS.....	101
2.3. <u>PREPARACION DE ANTIGENOS</u>	103
2.3.1. CONSIDERACIONES GENERALES.....	103
2.3.2. PREPARACION DE EXTRACTOS LIOFILIZADOS.	106
2.3.2.1. <u>Extracto de Polvo doméstico</u>	106
2.3.2.2. <u>Extractos de ácaros</u>	108
2.3.2.3. <u>Extractos de los medios de cultivo</u> ..	108
2.3.3. PREPARACION DE SOLUCIONES ANTIGENICAS A PARTIR DEL LIOFILIZADO.....	109

2.3.4. ESTERILIZACION DE LAS SOLUCIONES ANTIGENICAS Y CONTROL DE ESTERILI- DAD.....	110
2.4. METODOS PARA LA DETERMINACION DE LAS RELACIONES ANTIGENICAS EXISTENTES EN- TRE LOS DIVERSOS EXTRACTOS DE POLVO DOMESTICO Y ACAROS.....	111
2.4.1. METODOS "IN VIVO".....	111
2.4.1.1. <u>Reactivo biológico: pacientes con atopias respiratorias.....</u>	111
2.4.1.2. <u>Reactivo biológico: conejos den- sibilizados experimentalmente...</u>	113
2.4.1.2.1. Sensibilización de los cone- jos.....	113
2.4.1.2.2. Reacciones cutáneas.....	113
2.4.2. METODOS "IN VITRO".....	114
2.4.2.1. <u>Obtención de antisueros.....</u>	114
2.4.2.2. <u>Ensayos de inmunodifusión.....</u>	115
2.4.2.2.1. Preparación de la solución de gel de agar.....	116
2.4.2.2.2. Preparación de las placas de gel de agar.....	116
2.4.2.2.3. Realización de las pruebas de difusión en gel.....	117

	Pag.
2.5. <u>CALCULOS ESTADISTICOS</u>	119
2.5.1. RELACION EXISTENTE ENTRE UNA REPARTI- CION OBSERVADA Y UNA REPARTICION TEO- RICA.....	119
2.5.2. RELACION EXISTENTE ENTRE UN CARACTER CUANTITATIVO Y UN CARACTER CUALITATI- VO. CALCULO DE LA MEDIA, VARIANZA, DESVIACION TIPO Y ERROR ESTANDAR.....	120
2.5.2.1. <u>Comparación de dos grupos</u>	120
2.5.3. RELACION EXISTENTE ENTRE DOS CARACTERES CUANTITATIVOS. CALCULO DEL COEFICIENTE DE CORRELACION Y DE LA RECTA DE REGRE- SION.....	128
2.5.4. ELIMINACION DE RESULTADOS ABERRANTES..	130

3. <u>ACAROS DEL POLVO DOMESTICO, INVESTIGACIONES</u> <u>PERSONALES</u>	133
3.1. <u>COMPOSICION, DENSIDAD Y FRECUENCIA DE</u> <u>LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO</u> <u>DE BARCELONA Y ALREDEDORES</u>	133
3.2. <u>INFLUENCIA DE DISTINTOS FACTORES</u>	143
3.2.1. HUMEDAD RELATIVA.....	145
3.2.2. EPOCA DEL AÑO.....	166
3.2.3. LUGAR DE RECOGIDA.....	179
3.2.4. METODOS DE LIMPIEZA.....	194
3.3. <u>INFLUENCIA DEL FACTOR CUANTITATIVO DE ES-</u> <u>TA ACAROFAUNA EN LA PRODUCCION DE ATOPIAS</u> <u>RESPIRATORIAS</u>	201
3.4. <u>DISCUSION DE LOS RESULTADOS</u>	208
3.5. <u>CONCLUSIONES</u>	218

	Pag.
4. <u>PROPIEDADES ANTIGENICAS DE LOS ACAROS DEL</u> <u>POLVO DOMESTICO. COMPARACION DE SUS EXTRAC-</u> <u>TOS ANTIGENICOS CON LOS EXTRACTOS DE POLVO</u> <u>DOMESTICO. INVESTIGACIONES PERSONALES.....</u>	223
4.1. <u>RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE</u> <u>TESTS CUTANEOS DE PUNTURA EN NIÑOS ALER-</u> <u>GICOS.....</u>	223
4.2. <u>RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE</u> <u>TESTS CUTANEOS POR INTRADERMOREACCION</u> <u>EN CONEJOS SENSIBILIZADOS EXPERIMENTAL-</u> <u>MENTE.....</u>	236
4.3. <u>RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE</u> <u>ENSAYOS DE INMUNODIFUSION.....</u>	239
4.4. <u>DISCUSION.....</u>	245
4.5. <u>CONCLUSIONES.....</u>	251
5. <u>RESUMEN Y CONCLUSIONES FINALES.....</u>	253
6. <u>BIBLIOGRAFIA.....</u>	259

1. INTRODUCCION

1.1. EL ALERGENO DEL POLVO DOMESTICO

El hecho de que el polvo doméstico contiene un alergeno característico, capaz de producir estados atópicos en las vías respiratorias, fué sugerido ya en 1921 por KERN (69) y en 1922 por COOKE (24). Sin embargo, ¿cuál es la fuente de éste alergeno?, ha sido la pregunta que se han hecho los alergólogos durante más de cuarenta años.

Los estudios llevados a cabo por STORM VAN LEEUWEN (129), probaron que el alergeno estaba presente en las muestras de polvo procedentes de cualquier parte del mundo, por lo que se dedujo que la fuente productora debía de ser uno de los componentes normales y fijos del polvo.

La variación estacional del contenido de alergeno del polvo, con un notable incremento en otoño (139), coincidiendo con el momento en que se incrementan estas manifestaciones atópicas, hizo suponer que se trataba de una sustancia de origen biológico. También corroboró esta suposición el hecho de que el polvo de las muestras procedentes de viviendas humildes, poco ventiladas, edificadas sobre terrenos húmedos y pantanosos, contenían mayor cantidad de alergeno que el procedente de aquellas que gozaban de mejores condiciones y estaban situadas en lugares secos (131).

En 1924, STORM VAN LEEUWEN y cols. (130) demostraron la influencia favorable de la alta montaña en las complicaciones asmáticas que tenían al polvo doméstico como agente causal, y VAREKAMP, en 1925 (132), la correlación inversa existente entre la actividad alérgica del polvo doméstico y la altura sobre el nivel del mar.

A pesar de existir una base firme sobre el origen biológico del alérgeno al polvo, la búsqueda de la fuente productora no resultó fácil. Fueron muchos los investigadores del mundo entero que intentaron descubrir la naturaleza de la sustancia o sustancias responsables de dicho poder alérgico, siendo los componentes del equipo de investigadores del Departamento de Alergología de la Universidad de Leiden quienes lo hicieron de una forma exhaustiva, llegando a resultados positivos (119, 122, 134, 136, 137, 138, 139).

Las sustancias de origen biológico, tales como escamas cutáneas del hombre y animales domésticos, mohos y levaduras, insectos y arácnidos fueron detenidamente estudiados.

Los productos de descomposición cutánea de animales domésticos fueron rápidamente descartados, ya que el alérgeno se presentaba en cantidades similares en hogares con o sin animales.

La cantidad de escamas dérmicas desprendidas del hombre alcanza valores considerables, y sus extractos pueden producir, en determinados individuos, reacciones cutáneas

positivas. Pero para que se produzcan estas reacciones cutáneas, se han de ensayar extractos de escamas dérmicas de concentración muy elevada, siempre muy superior a la concentración de extractos de polvo que produzcan una respuesta similar. Por otra parte, aunque dichas escamas humanas pueden producir estados atópicos, la periodicidad de esta atopía (con un incremento de las manifestaciones asmáticas a principios de año) no coincide con la de la atopía al polvo doméstico (con un incremento de casos en otoño).

Las reacciones cutáneas con extractos preparados a partir de mohos y levaduras, tampoco coincidieron con las obtenidas con los extractos de polvo. También en este caso se necesitaban concentraciones mucho mayores.

Las experiencias realizadas con extractos de insectos y arañas, resultaron también negativas. Los únicos extractos que gozaban de cierta similitud con los de polvo doméstico, eran los de algunos ácaros, tales como Acarus siro, Tyrophagus putrescentiae y Glycyphagus domesticus.

Desde hacía ya tiempo, los ácaros venían siendo considerados como fuentes de alergenios. A partir de principios de siglo, repetidas veces se habían señalado casos de asma que tenían a los ácaros como agente etiológico. ANCONA(3), en 1923 señala una "epidemia de asma" en 21 personas que manipulaban cereales, que se demostró era debida a Pediculoides ventricosus. STORM VAN LEEUWEN

y cols. (130), en 1924, citan un caso de asma producido por Acarus siro y Glycyphagus spp., DEKKER (35), en 1928, señala que, en Alemania, puede considerarse que el 60% de los casos de asma, tienen a los ácaros como causa primaria o accesoria. Estos casos, y muchos parecidos, publicados en la literatura especializada, indujeron a la búsqueda de un agente similar como responsable del poder alergógeno del polvo doméstico.

No obstante, dicho alergeno no podía ser idéntico al producido por las diversas especies de Tyroglyphidae y Glycyphagidae antes señalados. Las reacciones cutáneas obtenidas con extractos de tales ácaros no coincidían exactamente con las obtenidas con extractos preparados a partir de polvo doméstico. Además, aun cuando dichos ácaros eran de frecuente hallazgo en el polvo, la cantidad en que se encontraban era demasiado pequeña para poder ser considerados como única fuente del alergeno del polvo doméstico.

En 1964, VOORHORST y cols. (136), en Holanda y OSHIMA (84) en el Japon, observaron en el polvo doméstico la presencia constante y abundante de un ácaro perteneciente al género Dermatophagoides, identificado por FAIN (38), en 1966, como Dermatophagoides pteronyssinus.

Extractos preparados a partir de este ácaro, dieron reacciones cutáneas parecidas a las producidas por extractos obtenidos a partir del polvo doméstico. Pero no eran solo los ácaros vivos los únicos que poseían acción alergógena,

sino que VOORHORST y cols. (137, 139) comprobaron que extractos preparados a partir del sustrato en que habían sido cultivados estos ácaros, y que contenían tan solo sus excrementos, poseían también poder alergógeno.

A partir de este momento el estudio de la acarofauna del polvo doméstico adquiere una importancia capital en su relación con las atopias respiratorias.

1.2. ACAROS DEL POLVO DOMESTICO

1.2.1. FRECUENCIA Y DENSIDAD

El estudio de los ácaros del polvo doméstico, iniciado por SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122) en Holanda, fué continuado por gran número de investigadores, en sus respectivos países (6, 16, 19, 23, 26, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38, 39, 46, 49, 51, 56, 72, 74, 76, 83, 85, 87, 91, 96, 97, 98, 100, 102, 105, 106, 107, 124, 126, 140, 141, 142, 143, 145), con objeto de establecer su composición y probable papel en la etiología del asma alérgica.

Según los datos publicados por los diversos autores, la frecuencia de infestación por ácaros en el polvo doméstico varía dentro de amplios límites. Dicha variación puede ser debida, en gran parte, a las diversas técnicas utilizadas por unos y otros. Dado el carácter microscópico de sus componentes esta fauna acarina pasa usualmente desapercibida, a menos que se utilicen técnicas de investigación adecuadas.

Mientras OSHIMA (87) y MIYAMOTO (78), en el Japon, SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122), en Holanda y ARAUJO-FONTAINE y cols. (6) en Alsacia, encuentran un 100% de positividades en las muestras examinadas, y FAIN (38), en Belgica y PENAUD y cols. (96) en

Francia dan un 86% y 80% respectivamente, el porcentaje de muestras positivas es notablemente inferior en los trabajos de CHARPIN y cols. (33) (67% en Francia), WHARTON (141) (60% en E.E. U.U.), REY CALERO y GARCIA DE LOMAS (97,98) (47% en Cadiz) y LARSON y cols. (73) (38% en E.E. U.U.).

Tambien los valores máximos citados oscilan dentro de un amplio margen: 138 ác./g de polvo (LARSON y cols. (73)), 500 ác./g (SPIEKSMAN y SPIEKSMAN-BOEZEMAN (122)), 800 ác./g (HAARLEN y ALANI, (56)), 1927 ác./g (SESAY y DOBSON (104)), 1960 ác./g (ARAUJO-FONTAINE y cols. (6)) y 2050 ác./g (OSHIMA (87)).

1.2.2. COMPOSICION DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO

Los primeros estudios realizados sobre esta fauna acarina consideraron al "ácaro doméstico" (Glycyphus domesticus), al "ácaro de los granos" (Acarus siro) y al "ácaro del queso" (Tyrolichus casei), como las especies más comunes del polvo doméstico.

Este criterio ha sufrido un cambio radical en los últimos años, durante el transcurso de los cuales se ha comprobado que los más típicos representantes de esta fauna acarina son los ácaros de la familia

Pyroglyphidae (Dermatophagoides spp. y Euroglyphus spp.), próximos parientes de los ácaros de la familia Psoroptidae, agentes causales de sarnas de animales domésticos.

Es interesante señalar que, a pesar de que estos ácaros Pyroglyphidae, considerados actualmente como los más genuinos representantes de la fauna acarina del polvo, son conocidos desde hace más de un siglo, la especie tipo, Dermatophagoides Scheremewskvii, fué descrito por Bogdanoff en 1964 (15), su presencia en el habitat doméstico pasó desapercibida hasta el año 1964, en que los estudios realizados por OSHIMA; (84), en el Japón, y por VOORHORST y cols. (136), en Holanda, señalaron su presencia y su posible papel etiológico en la alergia al polvo doméstico. A partir de esta fecha, numerosas publicaciones han puesto de manifiesto la presencia prácticamente constante de los Pyroglyphidae en el polvo doméstico, en todas las localidades sometidas a estudio, y su carácter predominante frente a los demás grupos de ácaros.

La distribución de las diversas especies pertenecientes a dicha familia (D. pteronyssinus, D. farinae, D. microceras, D. evansi, D. rwandae, D. aurescens, D. passericola, D. halterophylus, D. neotropicalis, Euroglyphus maynei, E. longior, Pyroglyphus morlani, P. africanus, Bontella bouilloni, Sturnophagoides brasiliensis, S. bakeri, Malayoglyphus carmelitus, M. intermedius), es muy variable, pero dentro de ellas

debemos señalar el caracter cosmopolita de D. pteronyssinus, cuyo habitat característico es el polvo doméstico, donde encuentra las condiciones ecológicas idóneas para su desarrollo (alimento, humedad, temperatura, etc.).

D. farinae, ácaro propio de productos alimenticios almacenados, y citado frecuentemente en el polvo doméstico del continente europeo, aunque en mucha menos cantidad que D. pteronyssinus, es el ácaro predominante en la acarofauna pulvícula en E.E. U.U. (73, 141). WHARTON (141), da el nombre de "ácaro del polvo europeo" a D. pteronyssinus y "ácaro del polvo americano" a D. farinae.

Junto a estos dos Pyroglyphidae cabe indicar otra especie, el Euroglyphus maynei, como otro de los típicos habitantes del polvo doméstico, si bién no se ha hallado hasta el momento en el continente americano.

En los Cuadros nº. 1 y 2 se resumen los resultados de los trabajos realizados por diversos autores, en diferentes países, sobre la distribución de estas tres especies de Pyroglyphidae en las muestras de polvo estudiadas.

En cuanto a D. passericola, especie citada por FAIN (36, 37, 39), como infestante de nidos y plumas de diversas especies de pájaros, fundamentalmente de Passer domesticus L., es de frecuente hallazgo en el polvo doméstico del Japon. MIYAMOTO y cols. (78)

Y OSHIMA (87), señalan haber encontrado dicha especie en el 100% de las muestras estudiadas en diversas localidades japonesas, representando un 8,7% del total de ácaros recogidos. También PENAUD y cols. (96) señalan su presencia en el polvo doméstico de Francia, si bien su hallazgo se dio en una única muestra de polvo de las 253 examinadas por los autores, por lo que su presencia puede ser considerada como meramente ocasional.

Los restantes Pyroglyphidae hallados en el polvo doméstico, en su mayoría nidícolas o detritícolas, han sido citados con carácter accidental. En el Cuadro nº 3 se resumen las diversas especies de Pyroglyphidae citadas con carácter accidental en el polvo doméstico, su localización geográfica y las correspondientes referencias bibliográficas.

Recientemente (55) se ha descrito una nueva especie del género Dermatophagoides, el D. microceras, especie muy próxima a D. farinae, por lo que es muy probable que una parte de los hallazgos referidos a esta última especie deban ser revisados.

Otras familias de ácaros Sarcoptiformes, incluidos como la anterior en el Supercohorta de los Acaridiae, tienen una abundante representación en la fauna acarina del polvo doméstico. Son las familias Glycyphagidae y Tyroglyphidae, cuyos representantes se encuentran usualmente asociados a cereales, harinas y otros productos alimenticios almacenados. Estos ácaros, sin

embargo, invaden con frecuencia el ambiente doméstico y pueden llegar a constituir una fracción importante de la fauna acarina presente en el mismo, e incluso, en condiciones favorables, llegar a constituir las especies dominantes de aquella.

Los Glycyphagidae, tanto por la frecuencia de su hallazgo como por el porcentaje que pueden alcanzar en la composición de esta biocenosis característica del polvo doméstico, son los que siguen en importancia a los Pyroglyphidae. A pesar de ello, los datos aportados por los diversos autores son muy variables (algunos solo se limitan a citar su presencia), dando valores que oscilan entre límites tan amplios como los de 2 al 31,8% frente al número total de ácaros presentes en las muestras estudiadas (51, 74, 78, 87, 96, 102, 122). Las especies citadas con mayor frecuencia pertenecen a los géneros Glycyphagus (G. domesticus, G. destructor, G. privatus), (6, 23, 38, 51, 56, 73, 76, 87, 97, 98, 102, 104, 122, 136), Chortoglyphus (Ch. arcuatus) (6, 56, 78, 87, 97, 98, 122), Gohieria (G. fusca) (23, 38, 56, 78, 87, 102, 104, 122), Blomia (B. freemani) (6, 78, 87).

Los Tyroglyphidae, que en los productos almacenados llegan a formar poblaciones numerosísimas, aparecen en el polvo doméstico en cantidades, en proporción, más reducidas que los anteriores, constituyendo tan solo entre el 0,4 y el 3,6% de la fauna acarina total (51, 74, 78, 87, 102, 104, 122). Las especies habitualmente

denunciadas son Tyrophagus spp. y Acarus siro "complex" (6, 38, 51, 56, 74, 78, 87, 97, 98, 102, 104, 122).

Los Oribatei, típicos representantes de la fauna edáfica, constituyen un segundo grupo de ácaros Sarcoptiformes de frecuente hallazgo en el polvo doméstico, pero con representación escasa en el total de las poblaciones estudiadas en este hábitat. Solo algunos autores han prestado atención a estos ácaros como miembros de esta acarofauna, oscilando su número entre el 0,3 y el 2,8% del total de ácaros. Según OSHIMA (87), algunas especies de Oribatei, presentes sobre todo en casas viejas, deberían ser consideradas como típicas de la biocenosis acarina doméstica.

El resto de los ácaros que se encuentran en el polvo doméstico, hasta un total aproximado de 50 especies, pertenecen ya a Sub-órdenes distintos: S.O. Trombidiformes y S.O. Parasitiformes. Su presencia en el polvo doméstico sufre variaciones, de unas especies a otras, condicionadas a los hábitos de las mismas.

La Supercohorta de los Tarsonemini (S.O. Trombidiformes) incluye la familia Tarsonemidae, cuyas especies son de hábitos micófagos, o parásitos de plantas o depredadoras de otros ácaros o insectos, lo que motiva que su hallazgo en el polvo doméstico sea citado frecuentemente (23, 33, 56, 74, 78, 87, 97, 98, 104, 122). La familia Pyemotidae, en cambio, perteneciente a este mismo grupo y representada por especies depredadoras de insectos que vi-

ven en los granos, solo tiene una representación esporádica y escasa en el hábitat doméstico.

La Supercohorta de los Prostigmata, perteneciente a este mismo suborden, comprende especies en su mayor parte depredadoras de otros ácaros. Por este motivo su presencia en el polvo doméstico es muy común (6, 23, 33, 51, 56, 74, 78, 87, 97, 98, 104, 122, 136), aunque aparezcan en cantidades poco elevadas. Algunas especies del género Cheyletus (Ch. eruditus, Ch. Trouessatii), han sido halladas por casi todos los autores en las muestras estudiadas, si bien esporadicamente pueden encontrarse especies de otros géneros pertenecientes a la misma familia Cheyletidae (Cheyletia flavelifera, Cheyletomorpha spp.) y a otras familias, tales como Bdellidae (Spinibdella sp.) y Tydeidae (Tydeus sp.)

El S.O. Parasitiformes está representado en el polvo doméstico unicamente por especies pertenecientes a la Supercohorta de los Mesostigmata. Si bien algunas especies presentan caracter depredador, la mayoría de ellas pueden considerarse como especies extrañas a este hábitat y por lo tanto procedentes de contaminaciones accidentales (78, 87, 122).

Autor	Localidad	D.ptero.	D.farin.	E.maynei
FAIN, 1966 (38)	Bélgica	86	--	71
SPIEKSMAN y cols., 1967 (122)	Holanda	100	2	53
MAUNSELL y cols., 1968 (74)	Inglaterra	82	--	40
LARSON y cols., 1969 (73)	Estados Unidos	--	38	--
SINHA, 1970 (108)	Canadá	15	19	--
WHARTON, 1970 (141)	Estados Unidos	27	52	--
MIYAMOTO y cols., 1971 (78)	Japón	100	89	56
CHARPIN y cols., 1972 (33)	Francia	30	21	16
PENAUD y cols., 1972 (96)	Alsacia (llanura)	36	25	18
PENAUD y cols., 1972 (96)	Alsacia (montaña)	5	10	20
SESAY y DORSON, 1972 (104)	Escocia	98	--	45
STENIUS y CUNNINGTON, 1972 (126)	Helsinki	75	50	88
STENIUS y CUNNINGTON, 1972 (126)	Finlandia (Este)	32	14	5
ARAUJO FONTAINE y cols., 1973 (6)	Francia	100	36	49

CUADRO N.º. 1.- Resumen bibliográfico de los porcentajes de muestras positivas a las tres principales especies de Pyrogllyphidae presentes en el polvo doméstico, en distintos localizaciones geográficas.

Autor	Localidad	D. ptero.	D. farinae	E. maynei
SPIEKSMAN y SPIEKSMAN-BOEZEMAN, 1967 (122)	Holanda	61,1	0,8	7,8
MAUNSELL y cols., 1968 (74)	Inglaterra	67,0	--	15,0
OSHIMA, 1970 (87)	Japón	42,3	9,1	6,1
MIYAMOTO y cols., 1970 (78)	Japón	27,2	4,3	3,1
ROUSSET, 1971 (102)	Francia	58,1	4,6	4,2
STENIUS y CUNNINGTON, 1972 (126)	Helsinki	65,6	8,6	25,9
STENIUS y CUNNINGTON, 1972 (126)	Finlandia (Este)	22,9	62,0	4,7
ARAUJO-FONTAINE y cols., 1973 (6)	Francia	69,0	(*)	17,0
GRIDELET y LEBRUN, 1974 (51)	Bélgica	70,5	0,4	11,0
(*) Los autores no dan cifras concretas con respecto a <u>D. farinae</u> , e indican únicamente que se halló siempre en un escaso número, salvo en tres casos: 10%, 35% y 46% del número total de ácaros.				

CUADRO Nº. 2.- Resumen bibliográfico de la representatividad de las tres principales especies de Pyroglyphidae presentes en el polvo doméstico con relación al número total de ácaros, expresada en forma de tantos por cien.

Especie	Localidad	Autor
<u>Dermatophagoides evansi</u>	Francia	ARAUJO-FONTAINE y cols. (6)
<u>Dermatophagoides neotropicalis</u>	Surinam	FAIN y BRONSWIJK. (41)
<u>Dermatophagoides passericola</u>	Japón	OSHIMA (87)
		MIYAMOTO y cols. (78)
	Francia	PENAUD y cols. (96)
<u>Malayoglyphus intermedius</u>	Singapur	FAIN y cols. (43)
	Djakarta	FAIN y cols. (43)
	Japón	OSHIMA (87)
<u>Malayoglyphus carmelitus</u>	Israel	SPIEKSMAN (121)
	Arenys de Mar (España)	BLASCO y PORTUS (14)
<u>Sturnophagoides halterophilus</u>	Singapur	FAIN y FEINBERG (44)

CUADRO Nº. 3.- Resumen bibliográfico de las especies de la familia Pyroglyphidae halladas en el polvo doméstico de forma ocasional.

SARCOPTIFORMES													
ACARIDAE													
Glycyphagus spp.	FAIR, 1966 (38)	SPIERSHAW Y SPIERSHAW-DOERHAY, 1967 (122)	MARKSILL Y cols., 1968 (74)	LARSEN Y cols., 1969 (12)	AMARJO-FOUNTAIN Y cols., 1979 (6)	COMANAL, 1970 (23)	HAARIN Y ALANI, 1970 (56)	OSTIMA, 1970 (81)	REY CALERO Y GARCIA LOMAS, 1971 (98)	ROUSSET, 1971 (102)	CHARPIN Y cols., 1972 (33)	REHARD Y cols., 1972 (96)	SHAW Y DOLSON, 1972 (105)
G. domgaticus	+	9,3	5,0	+		+	+	0,1	+	1,5			0-2,5
G. destructor	+		2,0		+		+	0,3					0,4-2,5
G. privatus								12,7					
Chortoglyphus arcuatus		0,1			+	+	+	5,5	+	0,5			0-1,3
Gohieria fusca	+	11,7			+	+	+	0,1					
Blonia spp.								6,1					
Ctenoglyphus sp.	+	0,1	0,3		+		+	2,5	+	0,7			0-1,3
Tyrophagus spp.		1,4	0,5		+			0,1	+				0-1,4
Acarus siro		1,1											
Rhizoglyphus spp.		0,2											
Tyrophagus sp.		0,1											
CRIBATEI													
		0,3						2,7		2,0			0,1
TRONCIDIIFORMES													
TAGSCHEINI													
		2,9	3,1			+	+	6,6			+		1,3-3,6
PROSTIGHATA													
		2,2	5,7		+	+	+	7,3		6,1	+	+	1,9-2,9
PARASITIFORMES													
MESOSTIGIATA													
		0,9						1,6					

CUADRO N°. 4.- Resumen bibliográfico de los ácaros no Pyroglyphidae presentes en el polvo, y su representatividad frente al número de ácaros totales.

1.2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICION CUALI Y CUANTITATIVA DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO.

1.2.3.1. Humedad relativa

Para poder cumplir de forma óptima su ciclo vital, los ácaros en general, y los Acarididae en particular, precisan que la humedad relativa del substrato sea muy elevada, oscilando entre 80-90% para la mayor parte de las especies (16, 27, 28, 60, 61, 117, 119). Cuando la humedad ambiental desciende a valores del 60% o inferiores, el desarrollo de la población acarina se detiene y la mayoría de los ácaros mueren. SPIEKSMÁ y cols. (124), señalan que la humedad es el factor principal en el control del desarrollo de una población acarina.

HAARLAN y ALANI (56) indican que, en Dinamarca, la H.R. de la mayoría de las casas con calefacción central alcanza niveles de tan solo 30-40% durante un periodo anual de 8-9 meses. La supervivencia de los ácaros en tales condiciones solo puede explicarse al pensar que existirán, dentro de la misma casa, microhábitats con una H.R. alta, en donde estos ácaros son capaces de continuar su desarrollo.

La H.R. ambiental de una casa estará supeditada a una larga serie de factores que dependerán no solo de las

condiciones climáticas externas, sinó también del nivel de vida de sus habitantes. Entre tales factores cabe destacar: tipo de construcción, terreno sobre el que se asienta la vivienda, tipo de calefacción usada, hábitos higiénicos de sus moradores, humedad y temperatura exteriores, etc.

1.2.3.2. Temperatura

Aún cuando el desarrollo de la mayoría de especies de ácaros es óptimo a temperaturas de 21-25°C (16, 27, 28, 60, 61, 71, 117, 119, 124, 145), la mayor parte de ellos presentan una notable resistencia frente a variaciones térmicas moderadas, habiéndose observado que continúan multiplicándose a temperaturas comprendidas entre 15-30°C. Es, por lo tanto, poco frecuente hallar en un hábitat doméstico temperaturas que excedan estos valores límites y que, por lo tanto, influyan de forma notable en el desarrollo de la población acarina.

A pesar de que la temperatura ambiental de la casa influya poco en el desarrollo de los ácaros, la temperatura exterior interviene de una forma indirecta pero decisiva. SPIEKSMAN y cols. (124) señalan que la H.R. de las casas de Davos (Suiza), durante el verano, es normalmente de un 50%, con una temperatura exterior de unos 20°C. En invierno, al descender la temperatura

exterior de forma notable, la necesidad de instaurar un sistema de calefacción para mantener una temperatura ambiental de 18-20°C en el interior de las viviendas, hace que la H.R. de las mismas descienda a un 20-35%.

1.2.3.3. Alimento

Como en todos los seres vivos, el desarrollo de los ácaros del polvo doméstico está supeditado a la presencia, en su hábitat, de sustancias apropiadas para su nutrición. Estas sustancias, que varían según las diversas especies, tienen como característica común su alto contenido proteico.

Teniendo en cuenta los hábitos alimenticios de las diversas especies más comunmente encontradas, no es de extrañar la presencia constante y mayoritaria de D. pteronyssinus en el polvo doméstico, cuya dieta está constituida fundamentalmente por las escamas epidérmicas que constantemente se desprenden de nuestro cuerpo en cantidades notables, calculadas en unos 5 g a la semana (50, 70). También puede ser esta la fuente de alimentación de otros Pyroglyphidae (Euroglyphus maynei y Dermatophagoides farinae), si bien estas especies presentan una dieta alimenticia mucho menos estricta y pueden alimentarse perfectamente de los productos de la despena o residuos de tales productos presentes en el polvo.

Las especies pertenecientes a las familias Glycyphagidae y Tyroglyphidae utilizan, como principal fuente nutritiva, materias alimenticias con elevado contenido protéico y glucídico, preferentemente cuando éstas están alteradas o en estado de descomposición (52, 54, 60, 61, 115). La presencia de tales sustancias en el polvo doméstico, como consecuencia de la llegada al mismo de los residuos procedentes de la mesa o de la cocina, condicionará la frecuencia y densidad con que dichos ácaros se presenten en esta biocenosis pulvídica.

La H.R. es también factor determinante en la presencia o ausencia de determinados tipos de alimento, y por lo tanto de la de determinados tipos de ácaros pulvídicos dependientes de estos nutrientes. Cuando la H.R. alcanza valores elevados, el crecimiento de mohos y micelios fúngicos está notablemente favorecido, constituyendo estas sustancias el factor primario (Tarsonemus spp. y otras especies estrictamente micófagas) o accesorio (Tyroglyphidae y Glycyphagidae) en la alimentación de determinados grupos o especies de ácaros. BRONSWIJK (18) señala que puede realizarse el control de la población acarina pulvídica mediante el uso de fungicidas.

1.2.3.4. Microhábitat

Como consecuencia de los tres factores citados anteriormente (humedad relativa, temperatura y alimento), la composición cuanti y cualitativa de la fauna acarina del polvo, dependerá de que las diversas especies encuentren, dentro de un determinado domicilio, los microhábitats que reúnan las condiciones adecuadas para su supervivencia, desarrollo y reproducción.

MAUNSELL y cols. (74) señalan que en Gran Bretaña, el polvo recolectado de los colchones contiene un número de ácaros 100 veces superior que el recolectado en la sala de estar. Los autores indican, asimismo, que los ácaros se localizan preferentemente en la superficie del colchón, donde se acumulan gran cantidad de escamas humanas, aunque, de acuerdo con HAARLN y ALANI (56), también puedan acumularse en el polvo de aquellos lugares que estén en contacto inmediato con el colchón.

Según STENIUS y CUNNINGTON (127), aun cuando el material de que está fabricado el colchón (lana, espuma, fibras sintéticas, etc.) no constituye nunca el alimento de los ácaros y, por lo tanto, teóricamente no influya en la aparición de éstos en el interior del colchón, si éste está ya muy usado y su cubierta se hace permeable a las escamas humanas y a los ácaros, puede desarrollarse en su interior una abundante fauna acarina, que estará prácticamente aislada de los factores ambientales externos, algunas veces adversos.

SESAY y DOBSON (105) realizan un exhaustivo estudio de los ácaros presentes en las distintas partes de 60 camas diferentes, con un total de 486 muestras recolectadas. La mayor representatividad, en relación al número de ácaros existentes en cada una de ellas, correspondió a D. pteronyssinus, seguido de E. maynei. Después de clasificar las diversas camas, según el número de estratos o capas que las revestían, los autores señalan no haber encontrado una correlación significativa entre el número de ácaros presentes y el número de coberturas que pudiera contener la cama. Sin embargo, el análisis de las muestras procedentes de los diversos estratos, mostró que las mayores densidades de ácaros se encontraban siempre en los estratos intermedios. El análisis de la significación indicó que tales diferencias eran altamente significativas referentes al número total de ácaros y al número de D. pteronyssinus; sin embargo no existía significación con respecto al número de E. maynei.

GRIDELET y LEBRUN (51), en un estudio ecológico sobre la dinámica de las poblaciones acarinas pulvícolas, señalan que existe una gran diferencia, en cuanto a la densidad de la población y en cuanto a su diversidad específica, entre las distintas muestras de polvo recolectadas en diferentes lugares de una misma vivienda.

1.2.3.5. Presencia de depredadores

La existencia de diversas especies de ácaros depredadores da lugar a que, dentro de la biocenosis pulvíc-acarina, se establezcan una serie de interacciones predator-presa, que determinarán, en mayor o menor cuantía, el desarrollo de dicha población. SOLOMON (114, 116) por otra parte, señala que es posible controlar experimentalmente el crecimiento de A. siro en cultivos mediante la inoculación a los mismos de unos pocos especímenes de Cheyletus spp.. GRIFFITHS (53) señala que la fumigación del trigo almacenado resulta con frecuencia innecesaria por la presencia en el mismo de Cheyletus spp., ácaros depredadores que pueden mantener bajo control, en condiciones naturales, al "ácaro de los granos" que infesta muy amenudo al trigo almacenado.

GRIDELET y LEBRUN (51) realizan un estudio sobre la relación existente entre el número de D. pteronyssinus presentes en el polvo doméstico y el de Cheyletus spp. Los coeficientes de correlación obtenidos, parecen indicar, según los autores, que los ácaros pertenecientes a la familia Cheyletidae constituyen un factor importante en el control numérico de las poblaciones de D. pteronyssinus.

1.2.3.6. Epoca del año

Los primeros estudios realizados sobre la posible variación estacional de los ácaros presentes en el polvo doméstico fueron llevados a cabo, en 1967, por SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122), en tres casas de Leiden (Holanda). Señalan los autores que los ácaros pertenecientes al género Dermatophagoides, al igual que los pertenecientes a los demás géneros presentes en el polvo doméstico, sufren un aumento y descenso periódico de sus poblaciones a lo largo del año. Los valores máximos hallados corresponden a las muestras recolectadas en los meses de agosto, septiembre y octubre, en tanto que los valores mínimos se observan en las correspondientes a los meses de febrero, marzo y abril.

VOORHORST y cols. (139) hacen hincapién en la concordancia existente entre esta variación estacional de los ácaros del polvo doméstico y el incremento autumnal de los ataques asmáticos en aquellos pacientes que presentan atopia al polvo doméstico.

SPIEKSMA y cols. (124), señalan haber encontrado resultados parecidos a los de SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122), en diversas localidades suizas, aun cuando el número de ácaros hallados fuera muy superior.

GRIDELET y LEBRUN (51) indican que la variación estacional del número de ejemplares de D. pteronyssinus,

presentes en las muestras tomadas periódicamente en una casa de Bélgica, muestra dos máximos distintos a lo largo del año: uno correspondiente al mes de julio y otro a los meses de septiembre-octubre.

SHAMIYEH y cols. (106) afirman que, después de recoger muestras a intervalos mensuales en 15 casas distintas del estado de Tennessee (E.E. U.U.), las mayores densidades de ácaros presentes en las mismas correspondió a las recogidas de julio y septiembre, siendo las del mes de febrero las que dieron resultados más bajos.

1.2.3.7. Situación geográfica

La distribución y densidad de las diversas especies de ácaros presentes en la biocenosis acarina del polvo doméstico, varía sensiblemente de acuerdo con la procedencia geográfica de las muestras examinadas. Dicha variación se manifiesta, de una forma cuantitativa, en aquellas especies de distribución cosmopolita, como consecuencia de las diferencias climáticas existentes entre distintas localidades, y de una forma cualitativa en aquellas otras cuya área de distribución es limitada.

Los resultados hallados por SPIEKMA y cols. (124), en un estudio comparativo de los ácaros existentes en las

casas de Holanda y los de diversas localidades suizas, muestran que existe una relación inversa entre la altitud y el número de ácaros presentes en el polvo de una vivienda.

PENAUD y cols. (96) señalan que el 65% de las muestras recogidas en localidades situadas a una altura superior a los 1.300 m sobre el nivel del mar fueron negativas a la presencia de ácaros, frente a un 19% de negatividades entre las muestras recolectadas en la llanura alsaciana.

1.3. INFLUENCIA DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO EN LA COMPOSICION DEL ALERGENO DEL POLVO

Despues de los trabajos de VOORHORST y cols. (136) en los que se señalan a los ácaros del polvo doméstico, particularmente a D. pteronyssinus, como principales agentes etiológicos del asma atópica, el estudio del alergeno del polvo ha recabado la atención de los alergólogos del mundo entero. No se ha llegado sin embargo, hasta el momento actual, a una uniformidad de criterio sobre la identidad del alergeno contenido en el polvo doméstico y el producido por D. pteronyssinus, quedando asimismo numerosas incognitas sobre el papel que pueda jugar el resto de la fauna acarina, presente en el polvo, en la producción de tal alergeno.

Es difícil, no obstante, comparar los resultados obtenidos por los diversos autores, dada la diversidad de métodos empleados y los diferentes criterios de valoración utilizados. Resumiendo podemos señalar que:

- a- No existe un criterio uniforme a la hora de diagnosticar una reacción como positiva.
- b- No existe un método exacto para valorar la concentración antigénica de un extracto. El uso indistinto de ácaros puros o de cultivos enteros para la preparación de extractos de ácaros, complica aún más la valoración, dado el alto poder antigénico de las exuvias y excrementos de algunos ácaros.

- c- El empleo de tests de provocación respiratoria por algunos autores y de tests cutáneos, de punctura o intradérmicos, o técnicas in vitro, por otros, motiva la imposibilidad de comparar los resultados.
- d- El uso de diferentes tipos de substratos para el cultivo de una misma especie de ácaro, y viceversa, puede influir en el resultado de las pruebas diagnósticas.

1.3.1. PAPEL QUE REPRESENTA D. pteronyssinus

Con el empleo de pruebas intradérmicas, VOORHORST y cols. (137) y SPIEKSMAN y VOORHORST (123), señalan que existe una clara identidad alérgica entre el polvo doméstico y D. pteronyssinus. Según MAUNSELL y cols. (74), un 94% de enfermos con reacción positiva al polvo doméstico dieron positividad frente a D. pteronyssinus. Resultados análogos han sido citados por VIRCHOV (133), YOUNG y BANGA (143, 144), NEGRINI (81) y CHARPIN y cols. (33, 34).

Mediante el empleo de reacciones de provocación respiratoria, mientras PELIKAN y WRIES (92), VIRCHOV (133) y COLLDHAL (22), obtienen resultados semejantes a los anteriores, YOUNG y BANGA (143, 144), señalan haber obtenido un porcentaje de positividades al extracto

de D. pteronyssinus mucho más bajo que el obtenido al practicar tests cutáneos. Dicha discordancia es debida, según los autores, a la mayor especificidad antigénica que presentan los tests de provocación frente a los tests cutáneos.

VIRCHOV (133) señala que la eosinofilia producida por inhalación de extractos antigénicos, era mayor al usar extractos de polvo doméstico que al usar extractos de D. pteronyssinus.

Con el empleo de métodos "in vitro" tampoco ha habido uniformidad de opiniones. Mientras STENIUS y WIDE (127) STENIUS y cols. (128) y ARAUJO-FONTAINE y cols. (4, 5), señalan haber logrado neutralizar anticuerpos producidos por conejos sensibilizados a uno de los antígenos, con el empleo del otro antígeno, KAWAI y cols. (68), mediante técnicas de inmunodifusión, afirman haber obtenido como único arco de precipitación, común a ambas antígenos, el correspondiente a las escamas humanas contenidas en el polvo doméstico, usadas como medio de cultivo para D. pteronyssinus. Al medir la liberación de histamina de leucocitos de enfermos alérgicos, los resultados obtenidos por los autores fueron notablemente distintos al usar uno u otro extracto.

1.3.2. PAPEL QUE REPRESENTAN LAS DEMAS ESPECIES DE Pyroglyphidae

Con respecto a la posible identidad o parentesco antigénico entre los antígenos liberados por las diferentes especies del género Dermatophagoides, mientras MIYAMOTO y cols. (76) y PEPYS y cols. (93), afirman que existe entre ambos extractos una alergenicidad cruzada, y MAUNSELL y cols. (74) señalan haber obtenido reacciones cutáneas mucho más débiles al usar extractos preparados a partir de cultivos de D. farinae que las obtenidas al usar extractos de la misma concentración preparados a partir de cultivos de D. pteronyssinus, SPIEKMA y VOORHORST (123) y VOORHORST y cols. (139) llegan a la conclusión de que D. pteronyssinus y D. farinae son la fuente del mismo alérgeno. Según estos autores, las diferencias antigénicas halladas por otros investigadores no son más que el resultado de la diversidad de métodos y antígenos empleados.

Según CHARPIN y cols. (33), existe entre ambos extractos un estrecho parentesco antigénico.

STENIUS y cols. (128), señalan que las tasas de IgE específicas en sueros de pacientes alérgicos al polvo doméstico, correspondientes a D. pteronyssinus son mucho más altas que las correspondientes a D. farinae. Como resultado de ello, concluyen los autores

que, si bien existe entre ambos ácaros una marcada e indudable alergenicidad cruzada, uno de los componentes responsables se halla en mayor cántidad en D. pteronyssinus que en D. farinae.

La dificultad de obtener cultivos puros de otras especies de ácaros Pyroglyphidae, hace que, hasta el momento, no se hayan realizado, de una forma seriada, ensayos que puedan mostrar la naturaleza antigénica de tales ácaros. A pesar de ello, la mayoría de los autores creen en la posibilidad de que sean las diversas especies de esta familia las principales responsables del poder alergénico del polvo doméstico.

1.3.3. PAPEL QUE REPRESENTAN OTROS GRUPOS DE ACAROS

En un estudio comparativo, usando cuatro especies distintas de ácaros, D. pteronyssinus, Acarus siro, Glycyphagus domésticus y Tyrophagus putrescentiae, MAUNSELL y cols. (74) señalan haber encontrado que, de 94 enfermos con reacción positiva a D. pteronyssinus, 55 la dieron también positiva a A. siro, 30 a G. domésticus y 34 a T. putrescentiae. Según los autores, este elevado número de reacciones múltiples podía ser debido, bien a una cierta similitud antigénica o bien a la

exposición a una mezcla de estas especies, dado su frecuente hallazgo en el polvo doméstico.

MIYAMOTO y cols. (76) estudiaron las reacciones cruzadas producidas por seis especies de ácaros. Las especies pertenecientes a la familia Tyroglyphidae presentaron una antigenicidad cruzada altamente significativa con D. farinae, mientras que el grado de significación era mucho menor entre esta especie y las correspondientes a la familia Glycyphagidae.

SPIEKMA y VOORHORST (123), señalan que existe entre los alergenos de T. putrescentiae y A. siro un cierto grado de relación antigénica, pero no identidad; sin embargo ambos son notablemente distintos a los alergenos del polvo doméstico y a D. pteronyssinus.

1.4. JUSTIFICACION DE ESTE TRABAJO

El estudio crítico de los trabajos anteriormente citados en este capítulo introductorio, pone claramente de manifiesto el papel etiológico de esta acarofauna pulvícula en la aparición de las manifestaciones atópicas respiratorias, de cuyo origen puede responsabilizarse al polvo doméstico. Por otra parte, los contactos mantenidos con algunos ilustres alergólogos barceloneses, especialmente los Dres. Alemany Valls y Muñoz López, nos permitieron conocer que era elevado el porcentaje de la población infantil de nuestra ciudad que acudía a los consultorios de esta especialidad, afecta de procesos atópicos de este origen.

La falta de trabajos españoles sobre esta interesante faceta de la alergología, y sobre todo la ausencia de los mismos en lo que respecta a nuestra ciudad, nos indujo a orientar nuestro trabajo hacia el esclarecimiento de estas cuestiones en nuestro medio urbano.

La gran variación que presenta la biocenosis pulvífica de unas localidades a otras, tanto en lo que se refiere al aspecto cuali como cuantitativo, nos ha mostrado la necesidad de realizar un estudio detenido sobre la acarofauna normalmente presente en las casas de Barcelona, a la vez que el intento de conocer la

serie de factores responsables del desarrollo de esta población acarina.

La diversidad específica que presenta dicha acarofauna, lleva aneja la necesidad de establecer con claridad los tres puntos siguientes:

- a).Cuál es la importancia o responsabilidad de las diversas especies de ácaros presentes en el polvo doméstico, en la etiología del asma atópica infantil.
- b). El estudio de las posibles similitudes o parentescos antigénicos entre los extractos de polvo doméstico y los obtenidos de las diversas especies de ácaros presentes en el mismo.
- c). El posible parentesco antigénico de los extractos correspondientes a las diversos grupos de ácaros presentes en este biotopo pulvícola.

Dado que los únicos extractos antigénicos de este tipo existentes actualmente en el mercado son los correspondientes a:

Polvo doméstico

Dermatophagoides pteronyssinus y

Dermatophagoides farinae

preparados todos ellos unicamente para ensayos clínicos de tests cutáneos (para intradermoreacción o para punción y raspado, según las diversas casas comerciales), hemos considerado la necesidad de preparar extractos

de polvo y ácaros adecuados a cualquiera de las técnicas que tuvieramos que ensayar (tests cutáneos, sensibilización de animales de laboratorio, ensayos de inmunodifusión, etc.), y por lo tanto al cultivo de diversas especies de ácaros en el laboratorio.

1.5. ESQUEMA DEL TRABAJO

El presente trabajo lo hemos programado en dos partes perfectamente definidas:

a). Estudio de la acarofauna pulvícula barcelonesa.

Como premisa previa a dicho estudio ha sido necesario:

- El desarrollo de un método práctico experimental para la separación, recuento e identificación de los ácaros del polvo.

Una vez desarrollado dicho método, la pauta seguida ha sido la que a continuación se cita:

- Determinación de la composición, densidad y frecuencia de la fauna acarina del polvo doméstico de Barcelona y poblaciones circundantes.
- Determinación de la influencia de diversos factores (humedad relativa, temperatura, época del año, métodos de limpieza usados en la vivienda, lugar de recogida de la muestra, etc.), en la composición de dicha biocenosis pulvícula.

b). Estudio de las propiedades antigénicas de los ácaros del polvo doméstico y comparación de sus extractos antigénicos con los extractos obtenidos de polvo.

La pauta seguida ha sido la siguiente:

- Determinación de los substratos adecuados para el cultivo en el laboratorio de las siguientes especies de ácaros:

Dermatophagoides pteronyssinus

Dermatophagoides farinae

Acarus siro

Tyrophagus putrescentiae

- Preparación de extractos antigénicos de polvo doméstico, de las especies de ácaros cultivadas y de sus medios de cultivo.
- Realización de tests cutáneos, en niños alérgicos, con los diversos extractos preparados.
- Sensibilización experimental de animales de laboratorio a los diversos extractos de polvo y ácaros, y la práctica subsiguiente de reacciones cutáneas.
- Obtención de inmunosueros de los extractos de polvo y ácaros.
- Realización de ensayos de inmunodifusión, con los inmunosueros obtenidos, frente a los diversos extractos antigénicos.
- Discusión de los resultados obtenidos.

MATERIAL Y METODOS

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. ESTUDIO Y DESARROLLO DE UN METODO PRACTICO EXPERI- MENTAL PARA LA SEPARACION, IDENTIFICACION Y RECUEN- TO DE LOS ACAROS DEL POLVO

2.1.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Los diversos métodos utilizados para la extracción de los ácaros del polvo doméstico, con objeto de proceder a su ulterior identificación, pueden agruparse en tres tipos distintos:

- a)- Métodos que permiten la observación y separación de los ácaros directamente de la muestra, sin ninguna manipulación previa. Estos métodos, que denominaremos "métodos directos", solo permiten formar una ligera idea de la biocenosis acarina presente en la muestra estudiada.
- b)- Métodos que permiten la observación y separación de los ácaros, previa una concentración de los mismos:
 - b₁)- Métodos previa concentración biológica
 - b₂)- Métodos previa concentración mecánica

a)- Métodos directos

Estos métodos se basan en la observación y separación directa de los ácaros presentes en la muestra, a través del examen directo de la misma con una lupa estereoscópica, sin ninguna manipulación previa.

Este tipo de separación, utilizado entre otros por REY CALERO y GARCIA LOMAS (98), reúne, a nuestro entender, una serie de inconvenientes, que lo hacen inaplicable para llegar a un correcto conocimiento de la fauna acarina presente en las muestras.

En primer lugar, resulta muy difícil la visualización de los ácaros entre el conjunto de residuos que constituyen la muestra, máxime cuando entre las especies presentes las hay que manifiestan un fototropismo negativo y tienden a esconderse entre y debajo de estos residuos.

En segundo lugar, los ácaros de muy pequeño tamaño y escasa motilidad (Tarsonemus spp. y larvas de otros ácaros) pueden pasar muy fácilmente desapercibidos, inconveniente que se presenta asimismo en la detección de los ejemplares muertos que, desde el punto de vista de su capacidad alérgica, tienen tanta importancia como los ejemplares vivos.

En tercer lugar, este examen directo permite únicamente el estudio más o menos efectivo de pequeñas cantidades de polvo, del orden de algunos mgs. o cgs., con lo que es frecuente dar como negativa una muestra en la que, estudiada a través de algún método de concentración, pueda demostrar-

se la presencia de varias decenas de ácaros por gramo de polvo, hecho que hemos observado con frecuencia en el examen de las muestras de polvo estudiadas por nosotros.

Por estos motivos, desestimamos radicalmente la utilización de estos métodos directos.

b₁) - Métodos previa concentración biológica

Estos métodos se basan en la separación activa o dinámica de los ácaros presentes en la muestra, por el efecto combinado de una respuesta fototrópica negativa e higrotrópica positiva de los mismos. Estas respuestas se obtienen cuando la muestra va siendo desecada paulatinamente, y desde la parte superficial hasta el fondo, por un foco calorífico y luminoso.

Estos métodos biológicos, basados en el de Berlesse y estudiados comparativamente por MURPHY (80), son utilizados para el estudio de la microfauna del suelo, pero presentan asimismo algunos inconvenientes que, a nuestro entender, los hacen inaplicables al estudio de la fauna acarina del polvo doméstico.

El primero de estos inconvenientes deriva de que el comportamiento fototrópico e higrotrópico no es idéntico para los diversos grupos de ácaros que se presentan en el polvo.

En segundo lugar, la extracción, que conlleva una desecación muy lenta (48 horas o más) y gradual de la muestra, posibilita el que durante este tiempo continúe el proceso reproductivo de los ácaros presentes, con la obtención consiguiente de cifras de ácaros distintas a las presentes en la muestra original

En tercer lugar, existe otro inconveniente fundamental, ya señalado al tratar del método directo, que es el de recoger únicamente las formas vivas y activas que, según se ha indicado, no son las únicas que tienen importancia en la fauna de ácaros característica del polvo doméstico, cuyo interés reside en su capacidad alergógena, capacidad que comparten tanto las formas vivas como las muertas, así como también las exuvias resultantes de las mudas, cuyo número supera en ocasiones al de ejemplares vivos y activos.

b₂)- Métodos previa concentración mecánica

Contrariamente a los anteriores, estos métodos permiten una recogida cuantitativa de los ácaros, tanto de los ejemplares activos como de los muertos presentes en las muestras. Por este motivo, al intentar seleccionar un método de trabajo, hemos prestado una atención exclusiva a los métodos publicados que corresponden a este tipo.

El estudio bibliográfico nos ha permitido conocer la existencia de una serie de métodos que difieren entre sí por el uso o no de un tamizaje previo de las muestras y por el procedimiento seguido en la extracción cuanti-

tativa de los ácaros presentes; de entre estos métodos, examinamos los que consideramos más fundamentales.

LARSON, MITCHELL y WHARTON (73), utilizan un método bastante simple, que consiste en un tamizaje previo de una muestra de 0,1 g de polvo, agitación de esta con alcohol o eter en un cristal de reloj, y observación a la lupa estereoscópica, una vez evaporado el solvente. Aunque los autores señalan que las pérdidas ocasionadas por este método son solo de un 22%, el número de muestras positivas que indican resulta bajo (38%) comparado con las señaladas por otros, y con los resultados de nuestras experiencias personales, en las que hemos encontrado infestación por ácaros en el 100 % de las muestras estudiadas. Esta baja positividad se debería, a nuestro entender, a la pequeña cantidad de polvo utilizada por los autores, por lo que aparecerían como negativas las muestras que contuvieran un número escaso de ácaros, circunstancia que no ocurriría al usar cantidades mayores de polvo, junto con un procedimiento de extracción más eficiente, no limitado, como en el citado, a la eliminación parcial de los residuos presentes en el polvo por un simple tamizaje seguido de la acción del disolvente orgánico.

El método de FAIN(39), utilizado tambien por CHARPIN y cols. (33) con pequeñas variaciones, consiste unicamente en suspender la muestra en una solución saturada de ClNa , con una densidad aproximada de 1,2, a la que se añaden unas gotas de detergente para disminuir la tensión superficial, con el fin de evitar la aglomeración del polvo y facilitar la separación de los ácaros. Dejando

la suspensión en reposo en una cápsula de Petri, los ácaros aparecen en la superficie del líquido, de donde pueden recogerse. El uso de este método tropieza con la dificultad de que los ácaros tienden a situarse en los bordes de la cápsula, junto con otros residuos del polvo de la misma o menor densidad, lo que dificulta enormemente su observación y recolección para su estudio posterior; esta dificultad se acentúa si no se realiza el recuento y separación de los ácaros muy rápidamente, debido a la evaporación del agua y a la subsiguiente cristalización del ClNa . Aún cuando este método ofrece dificultad en la recogida de los ácaros concentrados en la superficie de la solución salina saturada, este tipo de separación por flotación ha servido como base a casi todos los demás métodos, con las variaciones introducidas por los diversos autores.

MAUNSELL, WRAITH y CUNNINGTON (74), utilizan un disolvente orgánico con una densidad elevada, tal como el Diclorometano, con lo que aprovechan las ventajas de los métodos utilizados por FAIN (39) y LARSON y cols. (73), pero no salvan los inconvenientes ya citados anteriormente, tales como el acantonamiento de los ácaros en los bordes del menisco que se forma en la vasija que contiene la suspensión, y escasa cantidad de muestra (0,1 a 0,5 g) utilizable para poder realizar un examen correcto.

OSHIMA (87), utiliza un método de separación fraccionada, basado en el uso de mezclas de tetracloruro de carbono y eter, de densidades decrecientes desde 1,6 a 1,3. El método incluye un tamizado previo de la muestra del que separan la parte fibrosa del polvo fino, desechando la pri-

mera fracción por considerar que es despreciable el número de ácaros que quedan en la misma. Para la extracción utilizan 1 g de polvo fino, que es sometido a las extracciones parciales en un embudo separador, con una agitación mecánica o aplicación de un vibrador sónico. La porción inferior del sobrenadante y el sedimento correspondiente a cada una de las fracciones, se pasan a través de un papel de filtro y el examen y recogida de los ácaros se realiza sobre los 10-16 filtros utilizados en el proceso. Aunque la eficiencia de esta técnica es indudable, su laboriosidad y el tiempo requerido, junto con la necesidad del uso prolongado de cantidades considerables de líquidos tóxicos e inflamables, son las principales inconvenientes que nos han inducido a abandonarla para nuestra rutina de trabajo.

SPIEKSMÁ y SPIEKSMÁ-BOEZEMAN (122), utilizan muestras de 5 g de polvo, que, una vez tamizadas (tamices de 2,4 y 0,075 mm de luz de malla) dejan una fracción fina intermedia del orden de 1 a 3 g. Esta porción se hierve en 160 ml de ácido láctico y, después de enfriada, se reparte en tubos y se centrifuga. Los sobrenadantes de cada tubo se pasan, separadamente, a través de otros tantos papeles de filtro. Los sedimentos de los tubos se agitan con una solución saturada de ClNa ($d \pm 1,2$) y se someten a otra centrifugación y al correspondiente filtrado, repitiendo estas operaciones tres veces consecutivas. El examen y separación de los ácaros se realiza asimismo sobre los filtros. Si bien los resultados proporcionados por esta técnica son aceptables (los autores señalan pérdidas del orden del 10-30%) nosotros consideramos que sigue siendo demasiado laborio-

sa para nuestro programa de trabajo. Además, hemos observado que, durante la centrifugación, la solución saturada de ClNa tiende a cristalizar en los bordes del menisco que se forma en los tubos y que, al englobar un cierto número de ácaros, dificulta su separación subsiguiente.

2.1.2. DESARROLLO DE UN METODO ORIGINAL

2.1.2.1. Consideraciones previas

El estudio crítico de los métodos anteriormente descritos nos ha permitido la puesta en práctica de un método de trabajo propio que, dentro de su relativa simplicidad, creemos que cumple los requisitos necesarios para la obtención de datos representativos, tanto cuantitativos como cualitativos, de la fauna acarina del polvo doméstico.

Para la elaboración de nuestro método de trabajo, hemos considerado fundamentales los siguientes aspectos:

- 1º.- Recogida de una muestra de polvo de un peso no inferior a 5 g, siempre que sea posible. El examen de muestras de polvo muy reducidas, del orden de unos pocos centígramos, no puede permitir, en modo alguno, una visión real de la fauna de ácaros presente en un ambiente doméstico, que debe ser examinado - por lo menos en un primer paso- en el conjunto de las habitaciones que lo constituyen.

- 2º.- Tamizaje previo de la muestra, antes de proceder a la concentración y extracción de los ácaros presentes en la misma. La separación de la parte fibrosa, y de las partículas de grande y pequeño tamaño, no solo facilita el examen y recogida posterior de los ácaros, sino que permite una primera concentración de los mismos en la porción intermedia del polvo; en esta operación, según datos de diversos autores (122), y los aportados por nuestra experiencia personal, no se pierde más allá de un 2-4% de los ácaros presentes en la muestra original.
- 3º.- Rehuir el empleo de disolventes orgánicos tóxicos o inflamables, substituyendo su uso por el de una solución salina (solución no saturada, con el fin de evitar la aparición de cristales durante el proceso operatorio). Se puede evitar la aglomeración de partículas, y facilitar la separación de los ácaros, con la adición de unas gotas de detergente y el empleo de un método de agitación continua de la muestra durante el proceso de extracción.
- 4º.- Recogida final de los ácaros sobre discos de papel de filtro, mucho más fácil y efectiva que en la superficie del líquido de extracción.

2.1.2.2. Descripción del método

a). Toma de muestras

La toma de muestras se ha realizado con un aspirador tipo escoba, que permite el uso de bolsas de papel y facilita la toma de muestras fraccionadas, cuando se considera interesante. La recogida del polvo se ha efectuado, con preferencia, en la sala de estar, comedor y dormitorios, prestando especial atención a las alfombras, muebles tapizados y rincones, donde el polvo se acumula en mayor cantidad.

En los casos en que las muestras no han podido ser sometidas a un examen inmediato, y con el fin de evitar una alteración de la población de ácaros presentes en las mismas, las bolsas, una vez selladas, se han mantenido 6 horas a 60°C. De esta forma todos los ácaros presentes mueren sin sufrir alteraciones (122,139).

Antes de proceder al tamizaje, se ha efectuado una disgregación de la parte fibrosa y una homogeneización de la muestra, después de lo cual se han pesado 5 g. Si la cantidad de polvo era muy próxima a esta cifra, se ha procesado la muestra entera y los cálculos finales se han referido a una muestra de 5 g.

b). Tamizaje

Para el tamizaje hemos utilizado un sistema mecánico de agitación circular sin rotación. En el mismo se ha dispuesto un juego de tres tamices de paredes y malla de acero inoxidable, de 30 cm de diámetro, con luces de malla respectivamente de 2,4; 1,2; y 0,075 mm, provisto de

tapas superior e inferior.

El tamizaje lo hemos realizado en dos tiempos. Después del primer tiempo, de una duración de 25 a 30 minutos, se han disgregado los aglomerados formados por la parte fibrosa, en los dos tamices superiores, que tienden a adherirse a la malla de los mismos. El segundo tiempo ha sido de una hora.

Terminado el tamizaje, se ha recogido la fracción retenida por el tamiz de 0,075 mm de luz de malla, que es la que se ha sometido al procedimiento de extracción subsiguiente.

c). Extracción de los ácaros de la muestra

Para la extracción de los ácaros utilizamos un matraz de 450 ml, especialmente diseñado, provisto en el cuello de dos tubuladuras laterales, situadas a distinto nivel. (Fig. 1).

Se pasa el polvo al matraz, que se llena seguidamente con una solución de sulfato de cinc al 38% ($d = 1,2$), al que se ha adicionado unas gotas de detergente (tween 80); el nivel de la solución de sulfato de cinc se ha calculado para que el volumen contenido entre la superficie y la tubuladura lateral superior sea de unos 18-20 ml.

El matraz se ha situado en un agitador electromagnético, y se ha dejado durante una hora a una velocidad de 150-

200 rev/min. Durante este tiempo, los ácaros y las partículas de polvo de densidad inferior a 1,2 ascienden hacia la superficie del líquido, junto con algunas partículas de densidad mayor, arrastradas por la agitación mecánica del mismo.

Se ha dejado la suspensión en reposo durante $\frac{1}{2}$ hora, con el fin de que sedimenten las partículas de mayor densidad; quedando así flotando los ácaros, junto con las partículas de densidad similar o inferior.

Después de abrir la llave de la tubuladura lateral superior, se ha recogido la porción líquida situada por encima de la misma, que arrastra a los ácaros y partículas flotantes. A continuación, y con el fin de arrastrar los ácaros que hayan podido quedar adheridos a las paredes, se ha procedido a un lavado cuidadoso de las mismas con unos 10 ml de la solución de sulfato de cinc, recogiendo seguidamente los líquidos de lavado.

Debido a que al efectuar el lavado, algunos ácaros habrán descendido por el cuello del matraz, y con el fin de forzar también la separación de aquellos que podían haber quedado entre las partículas del sedimento, se ha procedido, durante media hora, a una segunda agitación. Terminada esta se ha recogido una segunda porción de la solución de sulfato de cinc - la que quedaba por encima de la tubuladura inferior - siguiendo la misma pauta ya indicada.

Los líquidos recogidos se han filtrado a través de un embudo de Büchner de 12 cm de diámetro, al que previa-

mente se había colocado un disco de papel de filtro. Con el fin de facilitar la observación, recogida y recuento de los ácaros, se han usado filtros cuadriculados.

El sedimento del matraz, así como el líquido remanente, se ha trasladado a una probeta y enrasado a 500 ml, con la solución de sulfato de cinc. La mezcla se ha agitado, para obtener una suspensión homogénea e inmediatamente después se han tomado 50 ml de la misma, los cuales se han filtrado tal como se ha indicado para la parte sobrenadante.

d). Separación y recuento

Los filtros que contienen los ácaros, además de otras partículas del polvo de la misma o inferior densidad, se han observado a través de una lupa estereoscópica, pudiéndose separar los ácaros fácilmente mediante una aguja enmangada. Según el grado de infestación de la muestra estudiada, se han aislado los ejemplares comprendidos en la totalidad, mitad o cuarta parte del retículo de cada uno de los filtros, multiplicando luego el número de ejemplares aislados por el factor correspondiente.

Los discos procedentes del filtrado del sedimento y líquido remanente se observan aparte y se multiplica el número de ácaros que contienen por 10. La suma del valor obtenido y el correspondiente al sobrenadante, da

el número total de ácaros presentes en la muestra objeto de estudio.

2.1.2.3. Valor de la técnica utilizada

De la revisión de los métodos utilizados por diversos autores, se desprende que solamente el de OSHIMA (87) permite una recuperación total de los ácaros recogidos en el tamizado. Por otra parte, SPIEKSMA (122) estima como resultados aceptables aquellos proporcionados por una técnica que permita la recuperación de un 70-80% de los ácaros presentes en las muestras durante los procesos de concentración.

Tal como se ha indicado en el apartado anterior, el recuento de los ácaros se ha realizado por separado: los correspondientes a la fracción sobrenadante o fracción A, y los correspondientes al sedimento y líquido remanente, o fracción B. El número de ejemplares hallados en la fracción A, no ha representado, en ningún caso, un porcentaje inferior al 50% de los ácaros totales de la muestra. Aunque dicho porcentaje ha variado dentro de márgenes muy amplios (50-90%), en la mayoría de los casos ha oscilado entre un 70-80% del número de ácaros totales. El aislamiento de los ejemplares correspondientes a dicha fracción supone el poder realizar correctamente el análisis cualitativo de la muestra.

El cálculo de los especímenes correspondientes a la fracción B, sumado a los obtenidos en la fracción A, permite el realizar el análisis cuantitativo, con un pequeño margen de error, limitado al factor de dilución, aceptable en este tipo de trabajos.

OSHIMA (87), por otra parte, indica que, para que un método sea válido para el estudio de la acarofauna del polvo doméstico, deben extraerse y recuperarse del mismo los pequeños ácaros Tarsonemini presentes en la muestra, ácaros que se separan perfectamente con la técnica empleada en nuestro método.

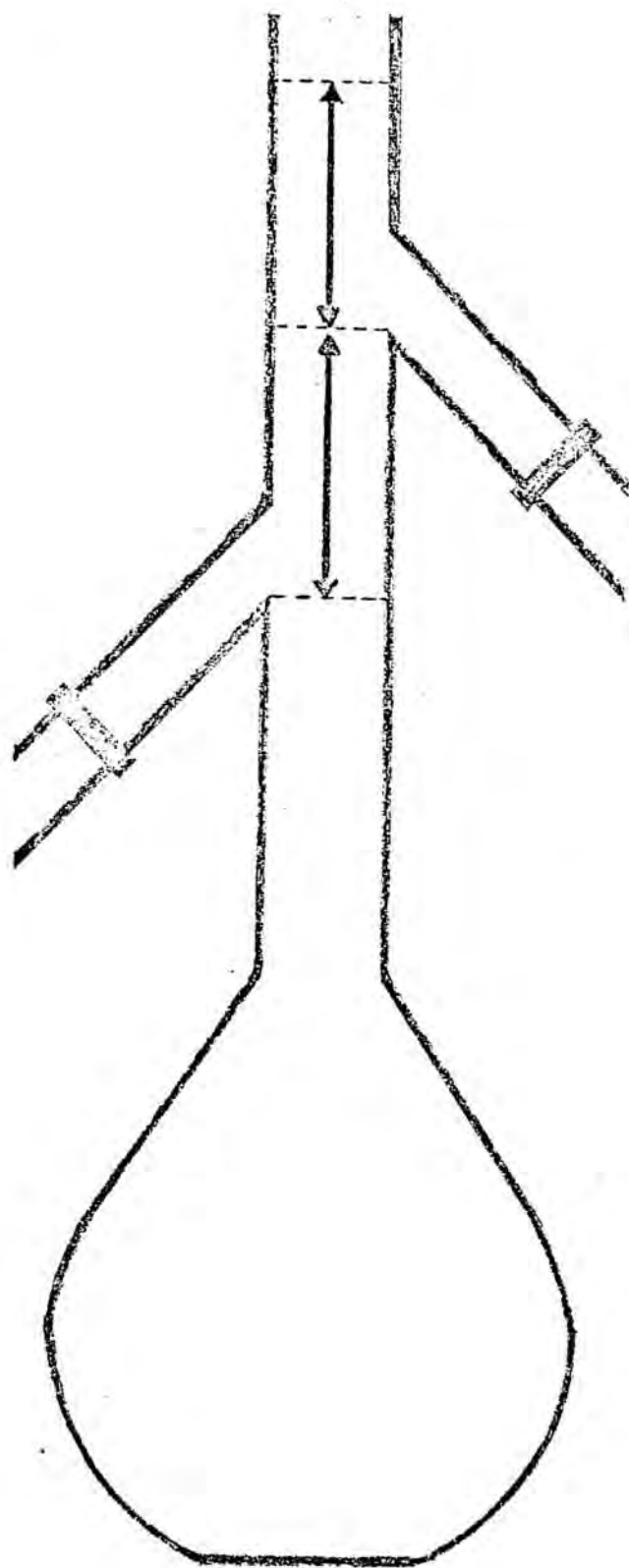


FIGURA Nº 1.- Esquema del matraz separador.

2.1.3. CONSERVACION MONTAJE E IDENTIFICACION DE LOS ACAROS.

2.1.3.1. Conservación

En aquellos casos en los que el montaje de los especímenes aislados ha tenido que demorarse un cierto periodo de tiempo, así como en aquellos otros en los que la gran cantidad de ácaros existentes en la muestra y sus características peculiares así lo han aconsejado, los ácaros, una vez aislados, se han mantenido en viales con alcohol de 70°.

2.1.3.2. Montaje

Despues de ensayar diversos medios de montaje para la conservación indefinida de preparaciones microscópicas de ácaros, tales como:

- Solución acuosa de alcohol polivinilico (Elvanol 71-74, DuPont) con ácido láctico (9).
- Mezcla de Metocelulosa y Carbobax 4000 en solu-

ción alcoholica de ácido láctico (9).

- Bálsamo del Canadá
- Glicerina
- Líquido de Hoyer,

los mejores resultados se han obtenido al usar como medio de montaje la solución de Hoyer. Dicha solución por otra parte, es la que se ha mostrado como uno de los medios más adecuados para el montaje de la mayor parte de las diversas especies de ácaros, conservando ejemplares sin deterioro durante más de veinte años, según las observaciones de BAKER y WHARTON (9).

Líquido de Hoyer

Agua destilada.....	50 g
Goma arábiga (cristales claros).....	30 g
Hidrato de cloral.....	200 g
Glicerina (bidestilada).....	20 g

(Los ingredientes deben mezclarse a temperatura ambiente y en la secuencia indicada)

Aún cuando el hidrato de cloral y la glicerina existentes en el medio producen una lenta clarificación de los especímenes montados, para que esta clarificación sea más efectiva, antes de proceder a su montaje definitivo, los ácaros se han mantenido en una solución acuosa de

ácido láctico al 70%, durante un periodo de 12-24 horas a una temperatura de 60°C.. Operando de este modo, recuperan generalmente su forma primitiva los especímenes que, como consecuencia de las diversas operaciones efectuadas para su aislamiento, quedaron deshidratados y contraídos.

Para la confección de preparaciones extemporáneas, en aquellos casos en los que la identificación ha debido realizarse inmediatamente y en aquellos otros en los que no creimos conveniente la fijación permanente de los ejemplares, el montaje se ha realizado en una solución al 90% de ácido láctico previa clarificación de los ejemplares, mediante ligera ebullición (unos pocos segundos) en la misma solución láctica. Dicho montaje extemporáneo permite el desplazamiento de los ejemplares en las preparaciones y su observación bajo diversos ángulos y la confección de posteriores preparaciones permanentes en líquido de Hoyer.

2.1.3.3. Identificación

La identificación definitiva de los ejemplares montados se ha efectuado mediante la observación al microscópio de contraste de fases a 400 y 1000 aumentos.

Las principales fuentes de información y claves sistemáticas usadas para la identificación de las diversas especies halladas han sido:

BAKER, E. W. y WHARTON, G. W.- "An introduction to Acarology". The Macmillan Company, New York, 1952

BROHMER, P.; EHRMANN, P. y ULMER, G.- "Die Tierwelt Mitteleuropas". Verlag von Quelle und Meyer, Leipzig.

HUGHES, A. M.- "The mites associated with stored food products". H. M. S. O., London, 1948.

HUGHES, A. M.- "Mites of Stooored food products". H. M. S. O., London, 1969.

OUDEMANS, A. C.- "Kritisch Historisch overzicht der Acarologie". E. J. Brill, Leiden, 1939.

OWEN EVANS, G.; SHEALS, J. G. y MACFARLANE, D.- "The terrestrial acari of the British Isles". British Museum Natural History, London, 1961.

RADFORD, Ch. C.- "Systemeatic Check List of Mite genera and type species". Secretariat Général de l'U.I. S.B., 1950.

SUMMERS, F. M. y PRICE, D. W.- "Review of the Mite Family Cheyletidae". University of California Press, London, 1970.

Debido al gran cambio que ha sufrido la sistemática de los diversos grupos de ácaros en los últimos años, las revisiones de géneros y especies efectuadas, y el gran número de especies nuevas descritas, sobre todo en lo que se refiere a los ácaros Pyroglyphidae, la clasificación de los especímenes pertenecientes a dicha familia ha debido realizarse, la mayoría de las veces, de

acuerdo, bien con los trabajos originales del autor que las describió, bien con revisiones posteriores. En estos casos la identificación se ha realizado basándose en los siguientes trabajos:

- BRONSWIJK, J.E.M.H., van y SINHA, R. N.- "Pyroglyphid mites and house dust allergy". *J. Allergy*, 47(1): 31-52, 1971
- COOREMAN, J.- "Sur un Acarien nouveau, prejudiciable aux matieres alimentaires entreposées: Mealia mayrei n. sp.". *Bull. et Ann. Soc. Entomol. de Belgique* 86 (5-6): 164-168, 1950.
- FAIN, A.- "Notes sur le genre Dermatophagoides Bogdanov. Description d'une espèce nouvelle (Acarina: Psoroptidae)". *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 69(1-2): 201-205, 1964.
- FAIN, A.- "Les Acariens nidicoles et detriticoles de la famille Pyroglyphidae Cunliffe (Sarcoptiformes)". *Rev. Zool. Bot. Afr.* 72(3-4): 256-268, 1965.
- FAIN, A.- "Nouvelle description de Dermatophagoides pteronyssinus (Trouessart, 1897). Importance de cet acarien en pathologie humaine. (Psoroptidae: Sarcoptiformes)". *Acarologia* 8(2): 302-327, 1966
- FAIN, A.- "Deux nouvelles especes de Dermatophagoides de la région de Kivu (Republique Democratique du Congo) (Acarina: Sarcoptiformes)". *Bull. Inst. r. Sci. nat. Bel.*, 47(8): 1-5, 1971.
- FAIN, A. y BRONSWIJK, J.E.M.H., van.- "On a new species of Dermatophagoides (D. neotropicalis) from house dust, producing both normal and heteromorphic males (Sarcoptiformes: Pyroglyphidae)". *Acarologia*, 15 (1): 181-187, 1973.
- FAIN, A. y CUNNINGTON, A. M. y SPIEKSMAN, F. Th. M.- "Malayoglyphus intermedius n.g., n.sp.. A new mite from house dust in Singapore and Djakarta. (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes)". *Acarologia* 11(1): 121-126, 1969.

- FAIN, A. y FEINBERG, J. C.- "Un nouvel acarien provenant des pousnières d'une maison à Singapour (Sarcoptiformes: Pyroglyphidae)". *Acarologia*, 12(1): 164-168, 1970.
- FAIN, A. y WHARTON, G. W.- "Un nouveau Dermatophagoidinae du Guatemala (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes)". *Bull. Inst. r. Sci. nat. Bel.*, 46(27): 1-4, 1970.
- GRIFFITHS, D. A. y CUNNINGTON, A. M.- "Dermatophagoides microceras sp. n.: A description and comparison with its sibling species, D. farinae Hughes, 1961". *J. Stored Prod. Res.*, 7: 1-14, 1971.
- HUGHES, A. M.- "On a new species of Dermatophagoides belonging to the family Psoroptidae Canestrini, 1892 (Acarina)". *Proc. Zool. Soc. London*, 124(1): 1-12, 1954.
- OSHIMA, S.- "Redescription of three species of Mealia Trouessart, 1897 (Acarina: PYroglyphidae) from house dust in Japan". *Jap. J. San. Zool.*, 19(3): 165-192, 1968.
- SPIEKSMAN, F. Th. M.- "Malayoglyphus carmelitus n. sp., a new mite from a house on Mount Carmel (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes)". *Acarologia* 15(1): 171-180, 1973.

2.2. CULTIVO DE LOS ACAROS Y ESPECIES CULTIVADAS

En el presente trabajo, los ácaros han sido cultivados en erlenmeyers de 100 ml, tapados con una torunda de algodón, la cual permite el paso del aire y evita que los ácaros escapen. Dichos erlenmeyers han sido colocados en cajas de metacrilato transparente, especialmente diseñadas, tal como se indica en la figura 2 .

Las cajas de cultivo empleadas poseen:

- a).- Una tapadera con cierre hermético, con lo cual podemos lograr un grado de humedad constante en su interior (cosa muy difícil de conseguir en una cámara grande), además de evitar la invasión de los cultivos por otros ácaros y pequeños insectos.
- b).- Una plataforma apoyada al fondo y distanciada unos cms. de las paredes de la caja, sobre la cual puedan apoyarse los erlenmeyers.

En el fondo de la caja colocamos una capa de aceite. Con ello logramos que si algún ácaro escapa del erlenmeyer, caiga al aceite y no pueda subir por las paredes laterales de la caja.

Las especies de ácaros cultivados han sido:

Dermatophagoides pteronyssinus

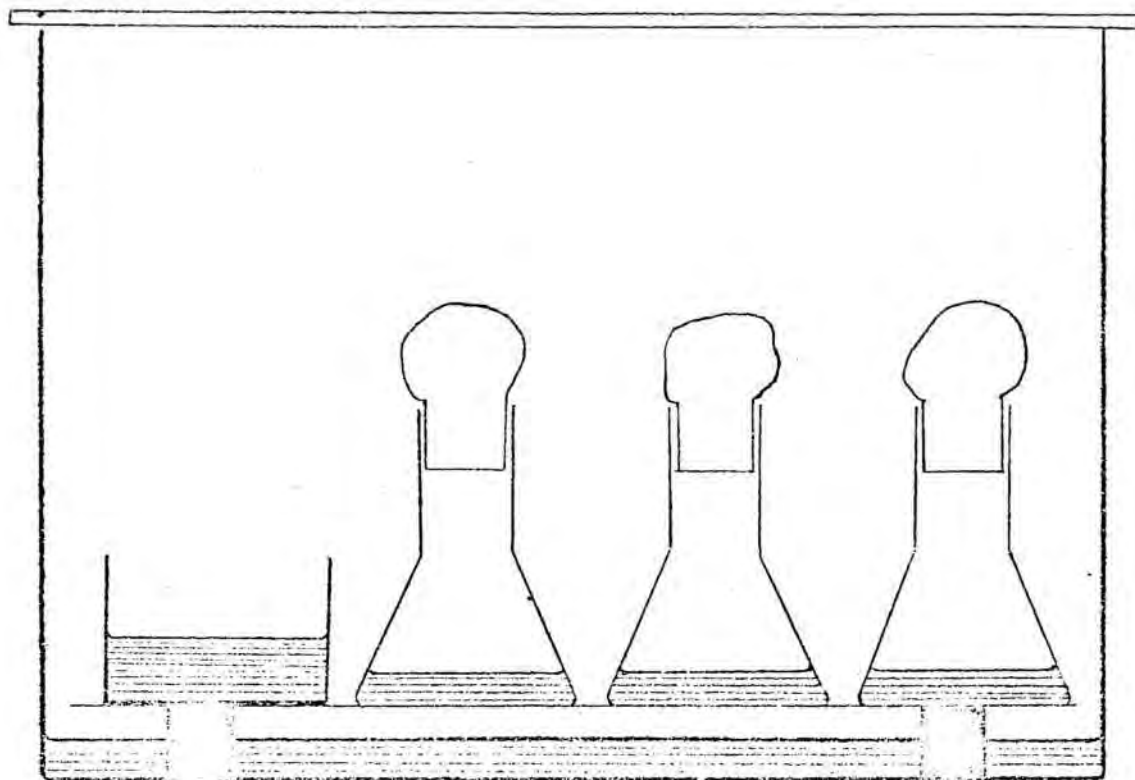


FIGURA Nº 2.- Esquema de una caja de cultivo.

Dermatophagoides farinae

Acarus siro

Tyrophagus putrescentiae

2.2.1. REGULACION DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES DE HUMEDAD Y TEMPERATURA.

2.2.1.1. Antecedentes

Como todo ser vivo, los ácaros necesitan para su perfecto desarrollo unas condiciones ecológicas adecuadas. La fina estructura cuticular que presentan los Acaridiae, adaptada a sus funciones respiratorias, para que el intercambio gaseoso pueda hacerse libremente por difusión directa a través de la cutícula, hace que este grupo de ácaros sea enormemente sensible a cualquier cambio ambiental.

HUGHES (61) señala que el desarrollo de Acarus siro y Tyrophagus putrescentiae, es favorecido cuando estos hallan un elevado grado de humedad en su substrato. En una revisión posterior de los ácaros asociados a productos almacenados, HUGHES (62), señala como condiciones óptimas para el desarrollo de Tyrophagus putrescentiae una temperatura de 23°C y una humedad relativa del 87%.

SOLOMON (115), señala que cuando la H.R. desciende por

debajo del 60%, A. siro y T. putrescentiae, quedan inactivados, mientras que su desarrollo es bueno entra un 70-80% de H. R. Aunque las temperaturas bajas reducen su actividad, normalmente no producen su muerte; la exposición prolongada a temperaturas superiores a 35°C, ocasiona la muerte de la mayor parte de las especies de Acarididae.

CUNNINGTON (27), realiza un preciso estudio sobre los límites físicos para el completo desarrollo de A. siro. En dicho estudio se comprueba la gran relación existente entre la temperatura y humedad relativa, y la influencia de las variaciones de una de estos factores con respecto al otro. Así, a altas temperaturas necesitan también un elevado grado de humedad para que los ácaros puedan cumplir su ciclo vital. A 5°C los ácaros completan su desarrollo con un grado de humedad inferior al 60%, pero a 25°C es necesaria una H. R. del 64-67,5% y a 30°C del 70-72%. Como límite superior de temperatura se señala los 31°C, temperatura a la cual únicamente sobreviven algunos pocos especímenes, siendo para ello necesaria una H. R. del 90%.

En un estudio similar al anterior, CUNNINGTON (28), indica que, aun cuando los límites físicos para el desarrollo de Tyrophagus putrescentiae son, al igual que para A. siro, bastante restringidos, al comparar ambas especies, T. putrescentiae resulta ser más tolerante a las altas temperaturas, pudiendo sobrevivir y multiplicarse perfectamente a temperaturas superiores a 30°C, las cuales son letales para A. siro, en tanto que es menos tolerante a temperaturas bajas, ya que puede desarrollarse por debajo de los 10°C.

Los primeros estudios realizados sobre el cultivo de D. pteronyssinus, fueron llevados a cabo por SPIEKSMAN (119), después del descubrimiento por VOORHORST y cols. (136) de la presencia constante de este ácaro en el polvo doméstico. Las condiciones de humedad y temperatura idóneas fueron determinadas experimentalmente, usando escamas epidérmicas humanas y levadura como medio de cultivo, y fijando uno de los dos factores a ensayar. Manteniendo la H.R. del medio a 80% (mediante una solución de cloruro amónico) la temperatura óptima fué de 25°C. Al conservar dicha temperatura y variar el grado de humedad, se obtuvieron los mejores resultados con una H.R. de 80 %. Grados de humedad superiores (alrededor de 85%) favorecían el crecimiento de hongos, coincidiendo la aparición de éstos con el descenso de la población acarina.

BRONSWIJK, (17) señala que, aunque el grado de H.R. óptimo para el desarrollo de D. pteronyssinus sea de 70-80%, algunos especímenes pueden resistir niveles tan bajos como un 33 % y tan altos como un 99%.

Con respecto a D. farinae, los datos proporcionados por la literatura especializada difieren poco de los ya indicados para otras especies. MAUNSELL y cols. (74) señalan haber realizado cultivos de dicho ácaro bajo unas condiciones de 20°C de temperatura y 80% de H. R.. LARSON y cols. (73) utilizan unas condiciones ambientales de 75% de H.R. y 25°C, mientras que las empleadas por HALL y cols. (57) son de 80% de H.R. y 25°C.

2.2.1.2. Regulación de la temperatura y humedad relativa en nuestros cultivos.

Las condiciones ambientales de humedad y temperatura, que consideramos como idóneas para los diversos ácaros cuyo cultivo hemos realizado, vienen determinadas por la influencia de estos factores en el desarrollo de estas especies, según las observaciones y datos que se recogen en el apartado anterior (2.2.1.1.)

La temperatura se ha mantenido constante a 23-25°C, mediante el empleo de una cámara climatizada, donde se han mantenido las cajas de cultivo.

La humedad, en el interior de las cajas de cultivo, se ha mantenido constante a un 80% de H.R., depositando en las cajas un recipiente abierto conteniendo una solución de KOH ($d=1.181$), preparada por el método descrito por SOLOMON (113). El empleo de la solución de KOH, presenta una clara ventaja frente al empleo de soluciones salinas, tales como la de cloruro amónico, sal común, bromuro potásico, etc.; con el empleo de la solución de KOH de $d=1.181$, además de conseguirse un grado de humedad muy estable, el CO_2 desprendido por los ácaros se combina con la solución alcalina, lográndose así una purificación continua de la atmósfera del interior de las cajas de cultivo.

2.2.2. ELECCION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y RESULTADOS OBTENIDOS.

2.2.2.1. Antecedentes

A la hora de escoger unos medios nutritivos adecuados para el desarrollo de las especies a cultivar, el estudio de los habitats normales de tales especies ha sido la premisa fundamental.

HUGHES (60), señala como hábitats normales para el desarrollo de Acarus siro una gran variedad de productos almacenados: granos, harinas, quesos, frutos secos, etc. Según el autor, el desarrollo de la colonia infestante es favorecido por la presencia de sustancias en descomposición. T. putrescentiae se encuentra con preferencia en aquellas sustancias con un alto contenido lipídico y proteico, tales como huevo en polvo, cacahuetes, queso y copra; señala también el autor que su hallazgo es frecuente en la harina, junto a A. siro.

En una revisión del género Acarus L. 1758, GRIFFITHS (52, 54) incluye bajo el nombre de "Acarus siro complex" a tres especies distintas y normalmente confundidas una con otra, y referidas bajo el mismo nombre de Acarus siro. Dichas especies son Acarus farris (

Oudemans, 1905), Acarus siro L., 1758 y Acarus immobilis sp. n.. Aún cuando dichas especies pueden hallarse asociadas en un mismo hábitat, Acarus farris y A. immobilis infestan de preferencia a cereales que no han recibido ninguna manipulación, siendo en cambio A. siro la especie dominante en los productos almacenados. Entre una larga lista de materiales infestados por dicho ácaro, señala el autor como más frecuentes a: trigo, maíz, harina, queso, piensos, comas para gallineros, semillas de linaza, mostaza, trebol, cebada, leche en polvo, etc..

Aunque Dermatophagoides pteronyssinus es conocido desde 1865, su presencia en el polvo doméstico ha pasado desapercibida durante cerca de un siglo. Es posible, no obstante, que el hallazgo ocasional de D. scherevetesky (probablemente D. pteronyssinus) en una planta (89) y de Mealia sp. (probablemente Dermatophagoides sp o Euroglyphus sp.) en un esputo (21), no tuvieran otro origen que la contaminación a partir de especímenes infestantes del polvo doméstico.

D. scherevetesky fué hallado por primera vez en el polvo de un colchón por BAKER y cols. (8); estos autores indican que lograron el crecimiento de una colonia de estos ácaros usando como medio nutritivo piel humana recortada de alrededor de las uñas.

SPIEKSMAN (119), después de ensayar diez productos diferentes como substrato para el desarrollo de este ácaro (agar-infusión de tierra, leche en polvo, plasma

sanguíneo desecado, keratina, copos de germen de trigo, comida de peces, tanato de albúmina, levadura en polvo, escamas epidérmicas humanas y polvo doméstico tamizado), afirma haber obtenido los mejores resultados con el empleo de escamas epidérmicas humanas, si bien logra asimismo su cultivo al usar como substrato comida de peces y polvo doméstico tamizado. Después de añadir pequeñas cantidades de levadura en polvo a los medios expresados anteriormente, los mayores rendimientos de los cultivos fueron los obtenidos con el empleo de la mezcla de escamas epidérmicas humanas y levadura.

En el año 1961, HUGHES (62) describió por primera vez a Dermatophagoides farinae como contaminante usual de productos almacenados: piensos para aves, cerdos y peces, harina, etc..

LARSON y cols. (73) estudiaron detenidamente la ecología, biología y poder alergénico de este ácaro, realizando ensayos para lograr su cultivo sobre una gran variedad de medios nutritivos, (tierra de diatomeas, heno, harina de soja, alimento para peces, polvo doméstico, escamas epidérmicas cutáneas, levadura en polvo, alimento para perros ("Gaine's"), y todas las combinaciones posibles entre ellos). El alimento complejo para perros ("Gaine's") resultó ser el substrato más idóneo para el cultivo experimental de este ácaro.

HALL y cols.(57), en un estudio similar al anterior

obtuvieron un máximo crecimiento de las colonias acarinas al usar como substrato escamas epidérmicas humanas + levadura, "Gaine's"+ levadura y levadura sola.

Como se deduce de lo anteriormente expuesto, D. farinae posee unos hábitos alimenticios mucho menos estrictos que la especie próxima D. pteronyssinus, pudiendo también cultivarse, según comunicación personal de A.M. Cunningham, en gran cantidad de productos, tales como harina de trigo, daphnias desecadas, piensos para peces, etc. etc..

2.2.2.2. Medios de cultivo ensayados

Para la selección previa de los medios sobre los que intentamos proceder al cultivo de las cuatro especies acarinas antes citadas, hemos considerado como substratos electivos los siguientes tipos:

- a). Substratos de los cuales se ha aislado la cepa que se pretende cultivar.
- b). Substratos citados como habitats normales, para la especie a cultivar, en la bibliografía consultada.
- c). Substratos utilizados ya por otros autores para el cultivo de una determinada especie.

- d). Substratos que si bien no han sido señalados como hábitats normales de la especie a cultivar, si lo son para alguna otra estrechamente emparentada con aquella.
- e). Substratos que por su naturaleza y composición consideramos que pueden adaptarse a las apetencias alimenticias de una determinada especie.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto los substratos ensayados han sido:

Para Acarus siro

- . Germen de trigo. Substrato utilizado por CUNNINGTON (27) y SOLOMON Y CUNNINGTON (117).
- . Harina de trigo. Substrato del que se aisló la cepa existente en nuestro laboratorio.
- . Queso rayado (*). Ditado por HUGHES (60), como substrato de A. siro
- . Levadura en polvo (**). Dada la amplia gama de pro-

(*).- Queso rayado tipo Gruyere

(**).- Sacharomyces cerevisae "Vigor".

ductos alimenticios que pueden aparecer infestados por A. siro, y comprobado el desarrollo de las dos especies del género Dermatophagoides en este substrato, ya solo, ya como aditivo de otro, hemos creído conveniente ensayar el posible crecimiento de todos los Acaridia a estudiar en este medio, con objeto de intentar encontrar un medio nutritivo apropiado al mayor número de especies posibles. Esta posibilidad simplificaría la preparación de los extractos usados para el control de las pruebas cutáneas, ya que todas las "pruebas en blanco" se reducirían a una sola si fuera único el medio de cultivo empleado.

Para Tyrophagus putrescentiae

- Germen de trigo. Usado por CUNNINGTON (28) y SOLOMON y CUNNINGTON (117).
- Queso rayado. Por ser esta la procedencia de la cepa aislada en nuestro laboratorio.
- Harina de trigo.- Debido a la frecuente presencia de T. putrescentiae en este hábitat (HUGHES (60) y observaciones personales).
- Levadura en polvo.

Para Dermatophagoides pteronyssinus

- Escamas epidérmicas humanas + 10% de levadura (*).
Medio usado por la mayoría de los autores.
- Alimento para perros (**). Substrato señalado como idóneo para el desarrollo de Dermatophagoides farinae.
- Alimento para peces (***). Ensayado por SPIEKMA (119) con buenos resultados.
- Levadura en polvo.

- (*). Las escamas epidérmicas humanas utilizadas, han sido las procedentes del polvillo obtenido por las máquinas de afeitar eléctricas. Dicho polvillo, ha sido lavado repetidas veces con acetona, para eliminar la grasa y los restos de posibles lociones empleadas para el afeitado.
- (**). Galletas para perros "Nido". Composición: harina de trigo, avena, cebada, arroz, carne, germen de trigo, sebo "fancy", melaza y levadura de cebada.
- (***). Dieta básica para peces tropicales "Nido". Composición: yema de huevo, harina de pescado, levadura, copos de avena, hígado de buey, germen de trigo, larvas de insectos, harina vegetal, daphnias y camarones desecados.

Para Dermatophagoides farinae

- . Alimento para perros. Medio nutritivo idóneo para este ácaro. Al carecer de "Gaine's", producto que no está a la venta en nuestro país, hemos creído conveniente ensayar un compuesto similar, de fácil adquisición.
- . Alimento para peces. Citado por HUGHES (62) como substrato de D. farinae.
- . Harina de trigo. Debido a la frecuente presencia de dicho ácaro en este substrato (HUGHES (62) y observaciones personales), Medio también recomendado por Cunningham para su cultivo.
- . Levadura en polvo. Citado por LARSON y cols. (73) como medio muy bueno para el desarrollo de este ácaro.
- . NOTA.- Aún cuando se hayan citado las escamas humanas adicionadas o no de levadura, como medio apropiado para el desarrollo de D. farinae, y posiblemente lo sean también para el desarrollo de otros ácaros, no hemos creído oportuno ensayar dicho medio, dada la dificultad que supone su obtención, por lo que no será nunca este un medio rentable para la producción de cantidades considerables de cultivo.

Las cantidades de medio de cultivo empleadas han variado según las especies, de acuerdo con su ciclo biológico y rapidez de crecimiento en condiciones favorables. Se ha comprobado que el exceso de medio, en cultivos poco desarrollados, favorece el crecimiento de hongos, la mayoría de las veces perjudiciales al desarrollo de los ácaros. Las cantidades de medio empleadas han sido de:

5 gr para cultivos de Dermatophagoides pteronyssinus y D. farinae.

15 g para cultivos de Acarus siro y Tyrophagus putrescentiae.

2.2.2.3. Inoculación de los ácaros al medio

Antes de iniciar los cultivos, los erlenmeyers que contenían los diferentes medios de cultivo se colocaron en las cajas de cultivo, durante un período de 24 horas como mínimo. De esta forma se consiguió que el medio de cultivo adquiriera la humedad adecuada para el desarrollo de los ácaros. Como se ha indicado anteriormente, los ácaros son muy sensibles a la desecación y cualquier descenso brusco de la humedad ambiental puede producir su muerte.

La procedencia de las cepas cuyo cultivo se ha ensayado es la siguiente:

- a). Los cultivos de Dermatophagoides pteronyssinus y D. farinae, han sido amablemente suministrados por el Dr. A. M. Cunnington, del "Pest Infestation Control Laboratory" (Slough, Inglaterra). D. pteronyssinus estaba cultivado en escamas epidérmicas humanas + 10% de levadura y D. farinae en "Gaine's dog meal".
- b). El cultivo de Acarus siro ha sido obtenido mediante el aislamiento de los ácaros hallados en una muestra de harina muy contaminada, procedente de una pastelería. Dichos ácaros fueron trasladados a "células de Robertson" para microcultivos de ácaros (117) donde se había colocado germen de trigo como medio nutritivo. Una vez desarrollado, el microcultivo se trasladó a un erlenmeyer para macrocultivos. Este macrocultivo ha sido el punto de partida para la iniciación de los cultivos sucesivos.
- c). Tyrophagus putrescentiae ha sido aislado, de forma similar a Acarus siro, de unas muestras de jamón y queso contaminadas por dicho ácaro. Como medio nutritivo inicial se utilizó, al igual que en el caso anterior, germen de trigo.

A partir de estos cultivos iniciales se ha procedido al estudio del crecimiento de estos ácaros en los diversos medios de cultivo señalados.

En estos subcultivos, el número de ácaros inoculados ha sido el correspondiente a una muestra de 0,5 g de inóculo, procedente de un cultivo en estado óptimo de desarrollo.

El cálculo de dicho número se ha realizado haciendo la media aritmética de los ácaros contenidos en otras dos muestras, procedentes del mismo cultivo y del mismo peso, cuyo conteo se ha hecho por el método que se describe en el apartado 2.2.2.5.

2.2.2.4. Mantenimiento de los cultivos

Los cultivos se han mantenido durante toda la experiencia en cámara climatizada, en las condiciones de humedad y temperatura anteriormente indicadas. El control de humedad se ha realizado periódicamente, introduciendo un higrometro de precisión en el interior de las cajas de cultivo, y cambiando la solución de KOH cuando ha sido necesario.

La caducidad de la solución depende del estado de desarrollo de los cultivos; cuando éste es muy grande y la cantidad de CO_2 desprendido es muy elevada, la potasa envejece pronto, transformándose en carbonato potásico.

Cuando los cultivos envejecen, los ácaros muertos y en descomposición desprenden gran cantidad de gases amoniacales, que resultan perjudiciales para el desarrollo de los demás cultivos contenidos en la misma caja. Como consecuencia de ello, se ha procurado mantener separados los cultivos en distinta fase de desarrollo.

Una vez a la semana, las tapaderas de las cajas se han mantenido abiertas, durante una hora, para renovar el aire del interior.

2.2.2.5. Cálculo del factor de crecimiento

a). Consideraciones previas

Después de revisar los métodos usados por los diversos autores para la separación y recuento de ácaros procedentes de diversos hábitats (2.1.1.), consideramos que ninguno de ellos resulta idóneo para el recuento de los ácaros procedentes de cultivos. Esta afirmación deriva del hecho de que todos estos métodos exigen como premisa fundamental, una concentración previa de los ácaros existentes en la muestra examinada, premisa innecesaria al tratarse de cultivos donde los ácaros se hallarán por millares o millones.

Nosotros hemos considerado más conveniente partir de una pequeña porción de cultivo (0,5 g) y preparar con la misma una suspensión homogénea en un líquido idóneo, contando seguidamente los ácaros correspondientes a partes alicuotas de la suspensión. Los cálculos subsiguientes permiten conocer la composición cuantitativa y cualitativa (huevos, larvas, ninfas y adultos) de la muestra examinada y, en consecuencia, la del cultivo en desarrollo.

A la hora de escoger un líquido adecuado para realizar la suspensión, hemos encontrado las siguientes dificultades:

1. Aquellos líquidos que producen la muerte rápida de los ácaros, tales como la mayoría de los disolventes orgánicos, producen una gran deshidratación de los ejemplares vivos, dificultando su diferenciación de los muertos y de las exuvias existentes en el cultivo.

2. En aquellos líquidos donde los ácaros no mueren, tales como el agua, suero fisiológico, etc., los ácaros conservan su motilidad, lo cual dificulta enormemente su recuento, máxime cuando, debido a su carácter fotóbico, tienden a escapar cuando se colocan bajo el foco luminoso de la lupa binocular.

Después de varios ensayos, hemos escogido como líquido suspensor el aceite de soja, ya que subsana, en parte,

los dos inconvenientes citados anteriormente:

1º. No produce una deshidratación rápida de los ácaros, lo que permite distinguir perfectamente los ejemplares vivos y aquellos de muerte reciente, ocurrida durante los procesos de extracción y suspensión de la muestra, de los ejemplares ya muertos antes de su examen.

2º. La viscosidad del aceite dificulta el desplazamiento de los especímenes vivos a la hora del recuento, dificultad que viene acentuada por los síntomas de asfixia que experimentan los ácaros al cabo de un cierto tiempo de permanencia en la suspensión.

b). Cálculo del factor de crecimiento.

Una muestra de 0,5 g de cultivo se coloca en una probeta, a la que se añaden 100 ml de aceite de soja. Agitamos la mezcla, e inmediatamente tomamos 10 ml de la suspensión, que filtramos en un filtro Büchner, al que se ha colocado un disco de papel de filtro cuadrículado. Se trasladan dichos discos a una lupa binocular, donde se cuentan los ácaros vivos o aquellos que estando ya muertos, mantienen aun su forma primitiva inalterada. El recuento de adultos, ninfas, larvas y huevos, se realiza separadamente.

Según el grado de crecimiento del cultivo, se han con-

todo, según los casos, todos los ejemplares contenidos en el filtro, o bien en la mitad o en un cuarto de su superficie. En aquellos casos en los que podía observarse, ya a simple vista, un crecimiento del cultivo, los discos cuadriculados se han sustituido por otros, tal como se representa en la figura 3, de forma que los ácaros hallados en las áreas coloreadas, representan $1/24$ de los presentes en la superficie total del disco. En cualquiera de los métodos elegidos para el recuento, resulta fácil el cálculo cuanti y cualitativo de la población acarina correspondiente al volumen de la suspensión estudiada.

A partir de las cifras obtenidas, se realiza finalmente la determinación del total de las diferentes formas evolutivas, presentes en los cultivos, en cualquier momento de la evolución de los mismos.

El factor de crecimiento de los cultivos se calcula hallando el cociente del total de especímenes presentes en el cultivo en un momento dado, y el número de especímenes inoculados.

$$\text{Factor de crecimiento} = \frac{\text{Total de especímenes presentes en el cultivo.}}{\text{Total de especímenes inoculados.}}$$

Se ha indicado ya anteriormente, la enorme sensibilidad de estos ácaros a las variaciones de temperatura y humedad. Con el fin de no someterles a estas variaciones con una frecuencia excesiva (apertura de erlenmeyers fuera de las cámaras climatizadas y homogeneización del cultivo, previa a la toma de muestras) se ha procedido de la siguiente forma:

Preparación de 4 cultivos en 4 erlenmeyers, para cada una de las especies estudiadas y para cada uno de los medios de cultivo ensayados; con estos 4 cultivos se forman 2 lotes "a" y "b" ("a" cultivos erlenmeyer 1 y 2, y "b" cultivos erlenmeyer 3 y 4) y la toma de muestras se realiza alternativamente en los dos erlenmeyers de uno y otro lote.

Los valores dados para el crecimiento en las distintas fases de la evolución del cultivo, representan la media aritmética de los dos cultivos pertenecientes a cada lote, ya sea a o b.

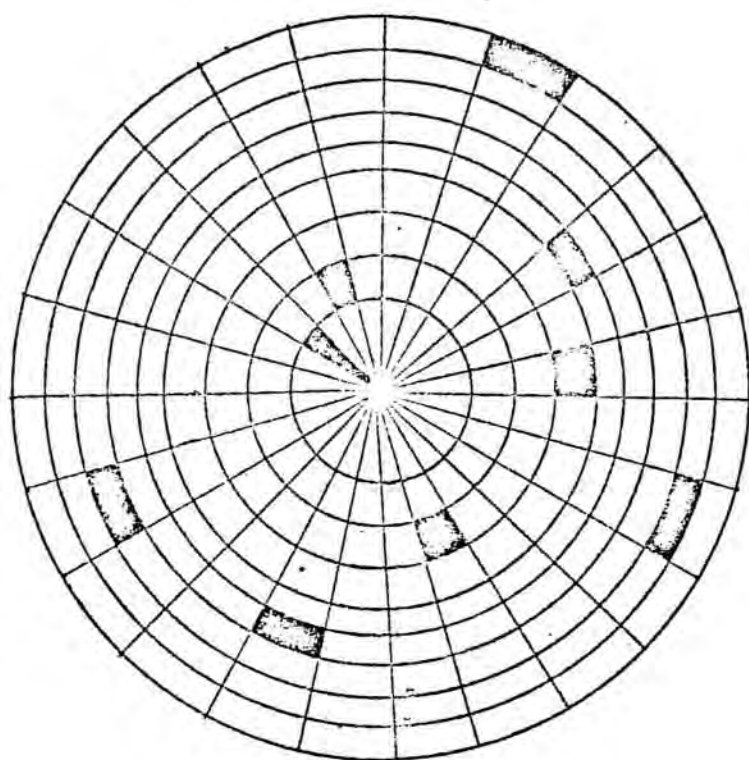


FIGURA Nº 3

2.2.2.6. Resultados

- El examen de la dosis del inóculo para las diversas especies cultivadas correspondió a las cifras que a continuación se indican:

Para Acarus siro:

Nº. total de ácaros inoculados:	10.580
Adultos.....	2.880
Ninfas.....	3.360
Larvas.....	740
Huevos.....	3.600

Para Tyrophagus putrescentiae:

Nº. total de ácaros inoculados:	102.480
Adultos.....	9.360
Ninfas.....	65.600
Larvas.....	22.480
Huevos.....	5.050

Para Dermatophagoides pteronyssinus:

Nº. total de ácaros inoculados:	1360
Adultos.....	255
Ninfas.....	665
Larvas.....	295
Huevos.....	145

Para Dermatophagoides forinae:

Nº. total de ácaros inoculados:	7.520
Adultos.....	3.300
Ninfas.....	2.420
Larvas.....	1.360
Huevos.....	440

La duración de la experiencia varió con los distintos substratos y con las direntes especies, de acuerdo con:

1. La duración del ciclo vital de cada una de las especies.
2. El número de ácaros inoculados.
3. La capacidad de adaptación del inóculo al nuevo substrato.

El desarrollo de las especies cultivadas en cada uno de los substratos ensayados está resumido en los Cuadros n^{os}. 5,6,7 y 8 y Gráficas n^{os}. 1, 2, 3 y 4.

Es de señalar que el factor de crecimiento máximo, obtenido para cada una de las distintas especies, está notablemente condicionado a la densidad acarina del inóculo. Cuando la población acarina presente en un cultivo alcanza una determinada cifra, se produce una saturación del medio y un rápido descenso del alimento dispo-

nible. Debe sumarse a este dato el papel perjudicial (ya expresado en el capítulo 2.2.2.4.) que ejercen los gases amoniacales desprendidos por los ácaros muertos y en estado de descomposición. Es por ello que el factor de crecimiento máximo, obtenido para cada una de las especies, varía en razón inversa al variar el número de ácaros presentes en el inóculo.

2.2.2.7. Conclusiones

1. Los ensayos realizados y los datos obtenidos con las diferentes especies de ácaros utilizadas y los diversos tipos de substratos empleados para su cultivo, permiten agrupar los resultados en tres grupos:

- a). Substratos a partir de los cuales no se consiguen cultivos eficientes, ya que el inóculo se mantiene con gran dificultad, mostrando un factor de crecimiento inferior a la unidad - y por lo tanto negativo -, al mismo tiempo que aparece un rápido declive de la colonia en desarrollo, con la supervivencia de los ejemplares limitada a un corto período de tiempo.

El preparado a base de alimento de perros ha resultado ser un substrato de este tipo para D. pteronyssinus y D. farinae, el alimento para peces lo ha sido en relación a D. pteronyssinus y la levadura en polvo para T. putrescentiae.

- b). Substratos que permiten el mantenimiento muy prolongado de la cepa en el laboratorio, sin que requieran subcultivos frecuentes. Por lo tanto, pueden considerarse idóneos para la conservación de cepas de aquellos ácaros que presentan un crecimiento muy rápido en otros substratos, si bien el tiempo de supervivencia en los mismos es muy limitado.

Como tales pueden considerarse la harina de trigo y el queso rayado con respecto a A. siro y T. putrescentiae.

- c). Cultivos a partir de los cuales pueden obtenerse una gran concentración de alérgeno, bien sea por el desarrollo que experimenta la colonia acarina en un corto periodo de tiempo, o por la gran longevidad de los cultivos, en los que coadyuvan en la producción de alérgeno tanto los ejemplares vivos como sus deyecciones y exuvias.

Se obtienen cultivos del primer tipo mediante el uso del germen de trigo como medio nutritivo para el desarrollo de A. siro y Tyrophagus putrescentiae y levadura en polvo para A. siro. Como cultivos del segundo tipo podemos considerar los obtenidos usando escamas cutáneas adicionadas de un 10% de levadura y la levadura sola para D. pteronyssinus, así como la harina de trigo, alimento de peces y levadura para D. farinae.

2. El medio de cultivo idóneo para el desarrollo de A. siro ha resultado ser el germen de trigo. Aun cuando la adaptación de dicha especie a la levadura haya sido lenta, este substrato parece satisfacer plenamente las apetencias alimenticias de Acarus siro, consiguiendo un elevado grado de desarrollo de la colonia acarina inoculada. Con el uso de la harina de trigo

como substrato, si bien no se obtiene un desarrollo tan notable, puede mantenerse un cultivo con un elevado número de especímenes viables durante un largo período de tiempo. Lo mismo ocurre al usar el queso rayado como substrato, aunque en este caso la población acarina es mucho más reducida.

3. El medio nutritivo idóneo para el desarrollo de T. putrescentiae ha sido también el germen de trigo. El queso rayado y la harina de trigo se han comportado como substratos capaces de mantener por largo tiempo un reducido número de especímenes y la levadura se ha mostrado completamente negativa.

4. Los substratos adecuados para mantener un cultivo de D. pteronyssinus, con una gran concentración de alérgeno, han resultado ser la mezcla de escamas dérmicas humanas con un 10% de levadura y la levadura sola. Los alimentos preparados para perros y peces, además de no lograr un notable desarrollo de la colonia acarina, han favorecido el crecimiento de hongos, lo cual ha disminuido aun más la viabilidad del cultivo.

5. De los medios de cultivo ensayados para el desarrollo de D. farinae, el alimento preparado para peces tropicales y la levadura en polvo son los que han producido un mayor crecimiento de la colonia, además de mantener un cultivo viable durante un largo período de tiempo.

El empleo de harina de trigo, como substrato para el desarrollo de dicha especie, ha proporcionado tambien resultados satisfactorios.

El alimento para perros se ha mostrado como substrato negativo para el crecimiento de una colonia de D. farinae.

Semanas	Factor de crecimiento			
	Germen de trigo	Harina	Levadura	Queso
1	0,5	0,5	0,1	0,7
2	1,2	2,3	0,1	5,0
3	3,5	4,9	0,1	1,9
4	13	2,7	0,1	0,9
6	116	11	0,1	0,9
7	159	15	0,1	1,1
8	214	30	0,2	0,3
9	303	13	1,2	0,3
10	20	27	5,1	0,5
11	0	22	10	0,9
12	-	25	77	0,2
13	-	26	81	0,1
14	-	12	125	0,1
15	-	6,3	250	0,1
16	-	2,5	64	0,3
17	-	1,3	0	0,2

CUADRO Nº. 5.-- Desarrollo de Acarus siro en los diversos substratos ensayados.

Semanas	Factor de crecimiento			
	Germen de trigo	Harina	Levadura	Queso
1	1	0,8	0,1	0,7
2	3,7	0,8	0,1	1,0
3	12	1,0	0,1	1,0
4	11	0,3	0,1	1,2
5	31	0,6	0,1	2,1
6	21	0,5	0,1	0,6
7	26	0,1	0,1	0,1
8	26	0,1	0,1	0,3
9	0,4	0,1	0,1	0,4
11	0	0,1	0,1	0,1
12	-	0,2	0,1	0,4
13	-	0,1	0,1	0,2
14	-	0,1	0,1	0,7
15	-	0,2	0,1	0,2

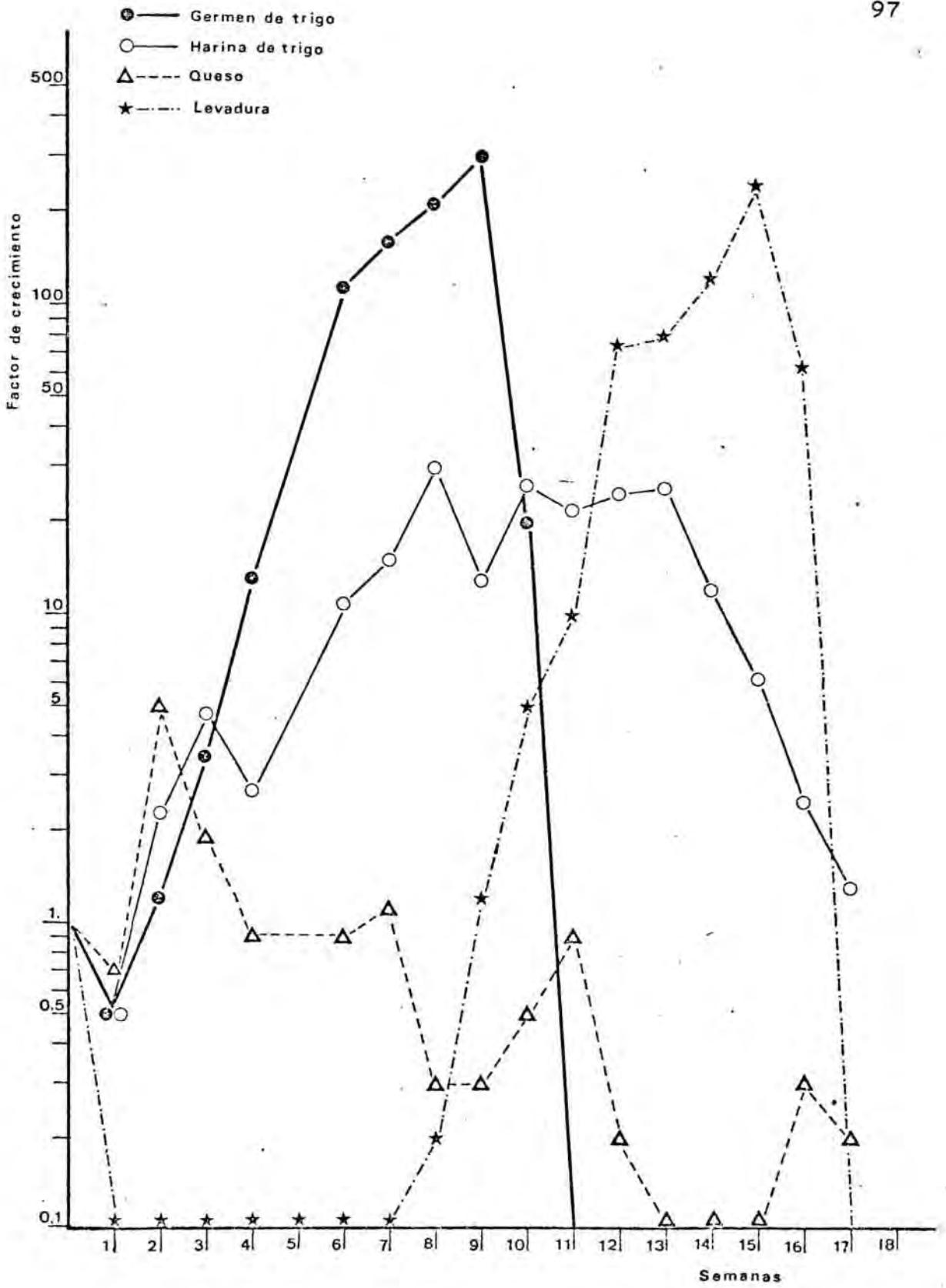
CUADRO N°. 6.- Desarrollo de Tyrophagus putrescentiae en los diversos substratos ensayados.

Semanas	Factor de crecimiento			
	Esc. cut. + 10% lev.	Alimento perros	Alimento peces	Levadura
2	1,8	0,6	1,0	0,8
4	4,0	0,8	0,4	5,2
7	19	1,0	0,3	11
9	30	2,8	0,4	16
11	72	3,1	1,2	50
13	130	4,3	2,2	80
15	150	0	1,2	99
17	142	0	0,2	102

CUADRO N°. 7.- Desarrollo de Dermatophagoides pteronyssinus en los diversos substratos ensayados.

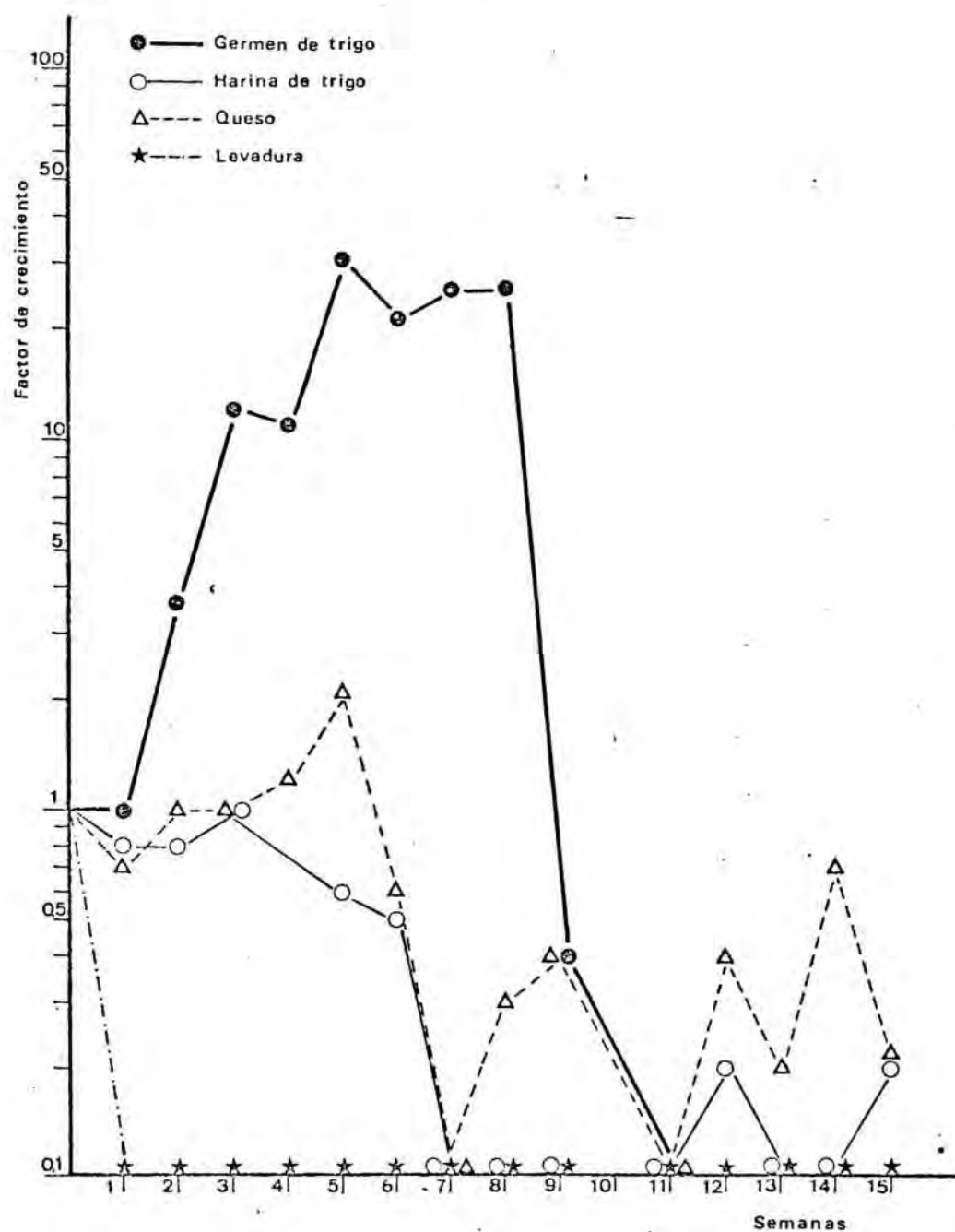
Semanas	Factor de crecimiento			
	Harina	Alimento perros	Levadura	Alimento peces
2	0,5	0,1	1,3	1,0
4	2,1	0,2	0,6	0,8
7	8,8	0,4	3,1	3,5
9	6,7	0,3	11,6	7,9
11	10,0	0,2	18,8	17,3
13	7,0	0,1	31,9	21,5
15	4,7	0	38,8	36,7
17	1,2	0	28,4	35,2

CUADRO N°. 8.- Desarrollo de Dermatophagoides farinae
en los diversos substratos ensayados.



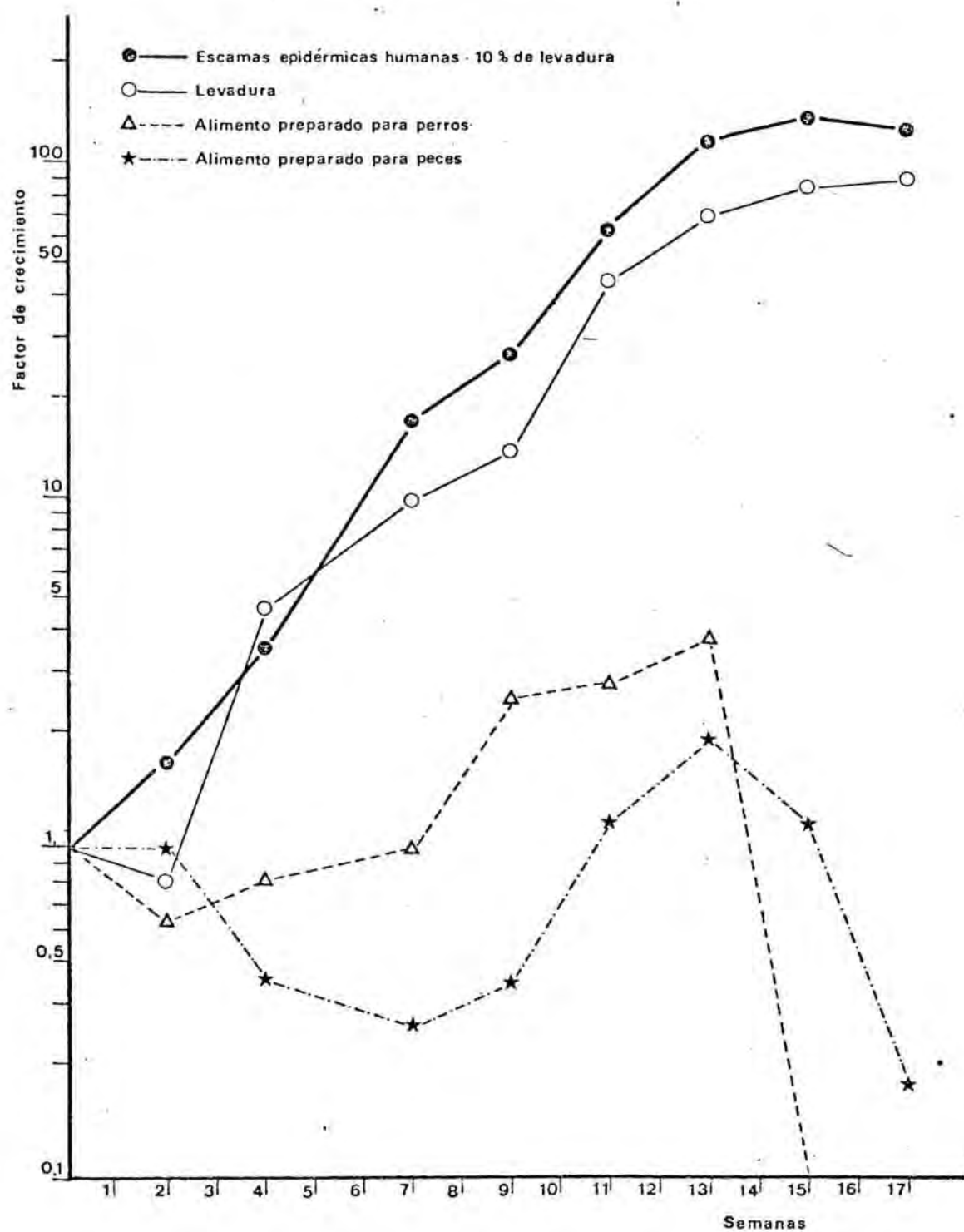
GRAFICA Nº. 1

Ver Cuadro Nº 5



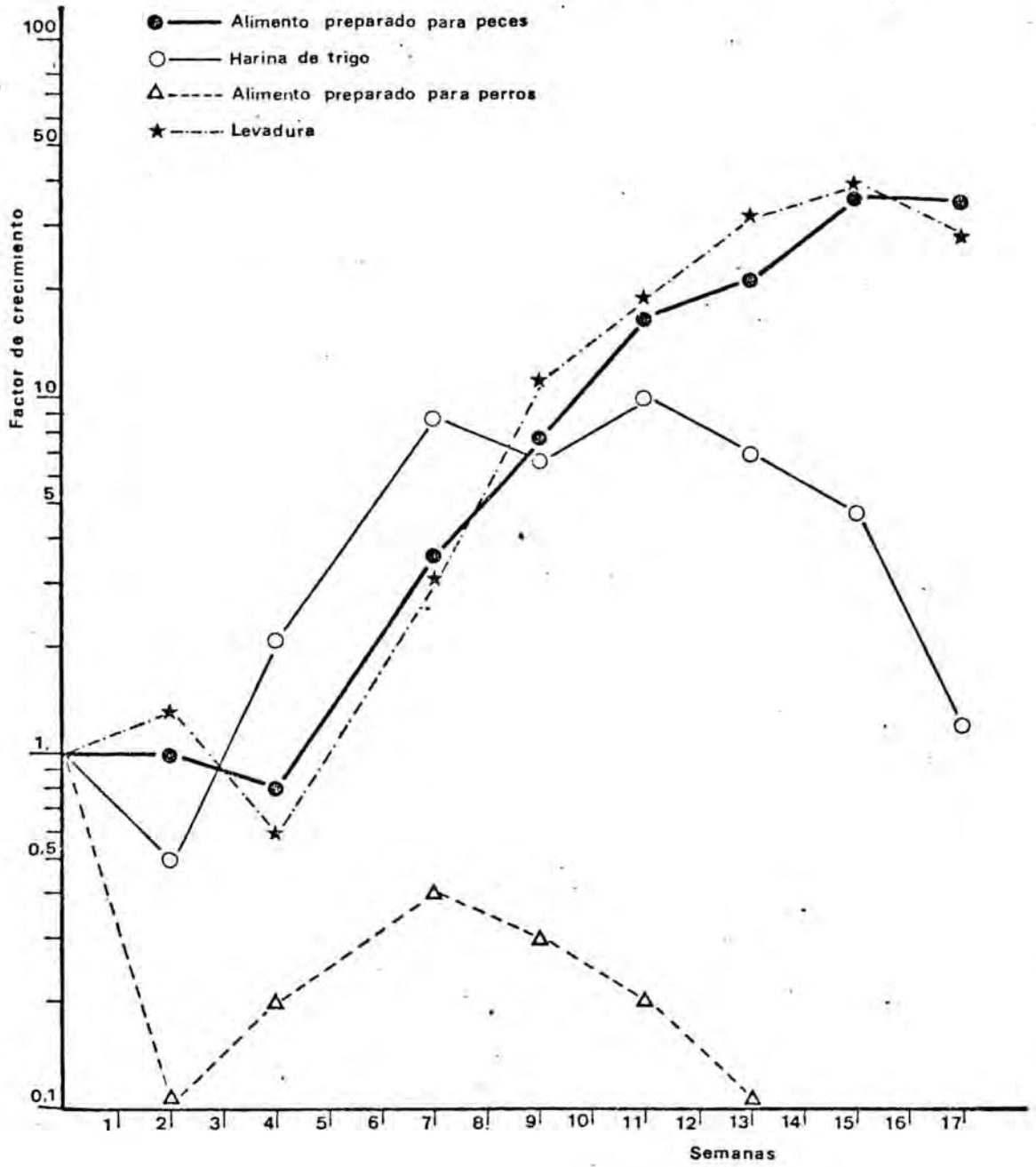
GRAFICA Nº. 2

Ver Cuadro Nº 6



GRAFICA Nº. 3

Ver Cuadro Nº 7



GRAFICA Nº. 4

Ver Cuadro Nº 8

2.2.3. OBTENCION DE STOCKS DE CULTIVOS PARA LA POSTERIOR PREPARACION DE EXTRACTOS ANTIGENICOS:

Aun cuando la levadura se haya mostrado como sustrato adecuado para el desarrollo de casi la totalidad de las especies ensayadas, por lo que su uso facilitaría la preparación de extractos antigénicos y posteriores pruebas inmunológicas con los mismos, la necesidad de poder obtener cantidades considerables de cultivo, en un reducido período de tiempo, nos ha forzado a la elección de los siguientes sustratos:

Germen de trigo para A. siro y T. putrescentiae

Escamas humanas + 10% de levadura para D. pteronyssinus

Alimento para peces para D. farinae.

Los cultivos se han mantenido en desarrollo durante el tiempo necesario para que las colonias de ácaros vivos, los muertos y las exuvias presentes en los mismos, representaran, aproximadamente, un volumen igual al del sustrato. Dicho periodo de tiempo ha oscilado de acuerdo con el ciclo vital de cada una de las especies y con el grado de desarrollo del cultivo usado como inóculo.

Alcanzado el grado óptimo de desarrollo, se ha procedido a la muerte del cultivo, manteniéndolo durante un periodo de 6-12 horas a 60°C. Los cultivos que han aparecido infestados por hongos se han desechado. Transcurrido este tiempo se ha añadido éter etílico, dejando

macerar la mezcla durante todo un día, al cabo del cual el éter se ha eliminado por filtración y la masa de cultivo se ha dejado secar en corriente de aire.

El cultivo así tratado se ha almacenado en frascos cerrados, a temperatura ambiente.

2.3. PREPARACION DE ANTIGENOS

2.3.1. CONSIDERACIONES GENERALES

Si bien no está aun determinada la exacta composición química de los alergenios del polvo doméstico y de las diversas especies de ácaros presentes en él, los estudios hasta ahora llevados a cabo por diversos investigadores han mostrado que dichos alergenios son sustancias pertenecientes al grupo de las glucoproteínas (10, 11, 12, 13, 48, 79), altamente solubles en agua siendo muy estables estas soluciones acuosas del alergenio, que es asimismo muy termoestable. Dicha estabilidad es tanto mayor cuanto más elevada sea la concentración de los extractos acuosos (139).

El principal problema que se plantea al realizar la preparación de un extracto alérgico de este tipo, es el de su valoración y estandarización. Los criterios de valoración seguidos por los diversos autores pueden agruparse en cuatro tipos fundamentales, adoleciendo cada uno de ellos de graves inconvenientes:

1º. Determinación del contenido proteico del extracto, dado en Unidades de Nitrogeno Proteico (N.P.U.), medido por el micrométodo de Kjeldahl. Este método, usado por diversas casas comerciales para la valoración

de sus extractos antigénicos, presenta el inconveniente de valorar la totalidad de las proteínas presentes en el extracto, tanto las responsables de su poder alérgico específico, como las de carácter inócuo y aquellas que podemos considerar como contaminantes del extracto.

2º. Concentración de proteínas, una vez purificado el extracto, dada en g/ml. Este método subsana solo en parte los inconvenientes ya citados para el método anterior (65, 66, 67).

3º. Relación existente entre el peso de sustancia bruta y volumen de extracto acuoso obtenido (4, 5, 7, 20, 22, 74, 75, 76, 93, 101, 109, 110, 111, 112, 125, 128, 133, 143, 144). Este método presenta el inconveniente de no tener en cuenta la riqueza del producto bruto inicial. De esta forma, los antígenos obtenidos de dos lotes de cultivo distintos no serán nunca comparables, puesto que su riqueza no será exacta en ningún caso.

4º. Unidades Equivalentes Noon. Este método, introducido por VOORHORST y cols. (139), se basa en la gran constancia que presenta el polen, como sustancia pura, en su contenido alérgico. NOON (82) consideró que 1 g de polen contenía 1.000.000 unidades Noon. Parte de la base de que las cantidades máximas de reagentes presentes en un paciente es la misma para cualquier tipo de alérgeno. Si dos grupos de pacientes con títulos máximos de reagentes a dos alérgenos distintos muestran reacciones cutáneas de la misma talla, la cantidad de alérgeno presente en los dos extractos debe de ser la misma.

Seleccionando un número suficiente de pacientes que presenten esta respuesta máxima, se puede construir para cada alérgeno la curva: log. dosis - máxima respuesta. Superponiendo dichas curvas, se puede hallar la equivalencia entre los diferentes alérgenos. Al aceptar la unidad Noon para el alérgeno del polen de gramíneas como la unidad que presenta mayor constancia y fiabilidad, podemos expresar la cantidad de alérgeno en todos los demás extractos en Unidades Equivalentes a dicha unidad Noon.

Los principales inconvenientes que observamos en este tipo de valoración son:

a). La gran cantidad de reacciones cutáneas que deben realizarse con el fin de seleccionar un número suficiente de pacientes que presenten estas respuestas máximas, para la confección de las curvas log. dosis - respuesta máxima y la subsiguiente estandarización del extracto.

b). La necesidad de estandarizar cada uno de los extractos procedentes de un lote distinto de cultivo o de una muestra distinta de polvo.

De acuerdo con lo expuesto, nosotros hemos adoptado como método de estandarización de los extractos, el que nos fué recomendado por HOLFORD-STEVENS. Dicho método consiste en partir de cantidades considerables de producto bruto (polvo doméstico, cultivos puros de ácaros

o substratos de tales cultivos) para la posterior preparación de extractos acuosos y de sus liofilizados. De este modo se dispone de un liofilizado standard, que puede ser usado extemporaneamente para la preparación de soluciones antigénicas apropiadas a la técnica para la cual deban ser utilizadas (reacciones cutáneas, tanto de punctura y escarificación como intradérmicas; tests de provocación ventilatoria; sensibilización de animales de laboratorio; reacciones serológicas, etc.). Dicho extracto liofilizado debe ser suficiente para poder ser usado durante todo el periodo de tiempo en que se prolonguen los ensayos a realizar, con lo que los resultados obtenidos en los diferentes tests practicados podrán ser comparables.

2.3.2. PREPARACION DE EXTRACTOS LIOFILIZADOS

2.3.2.1. Extracto de polvo doméstico.

El extracto de polvo doméstico usado, se ha preparado a partir de una mezcla de 20 muestras distintas de polvo doméstico, recolectadas en Barcelona, cuya composición acarina cuali y cuantitativa era conocida. El análisis de la mezcla ha dado el siguiente resultado:

Nº. total de ácaros / gramo de polvo 185

<u>Dermatophagoides pteronyssinus</u>	49,13%
<u>Dermatophagoides farinae</u>	10,28%
<u>Acarus siro</u>	2,96%
<u>Tyrophagus putrescentiae</u>	6,33%
<u>Cheyletus</u> spp.	9,09%
Otras especies.....	22,20%

El polvo se ha sometido a extracción, durante un periodo de 7 días, en líquido de Coca,

Líquido de Coca

Cloruro sódico.....	5 g
Fenol.....	4 g
Bicarbonato sódico.....	2,75 g
Agua destilada.....	1 litro,

al cabo de los cuales el extracto obtenido se ha filtrado y dializado en una solución 0,02% de bicarbonato amónico durante 1 día. La solución de bicarbonato amónico se ha renovado cada 6 u 8 horas. El dializado así obtenido se ha filtrado a través de un filtro de membrana Millipore (0,45 μ) y por último se ha liofilizado.

2.3.2.2. Extractos de ácaros

Se han preparado los siguientes extractos:

Extracto de Dermatophagoides pteronyssinus

Extracto de Dermatophagoides farinae

Extracto de Tyrophagus putrescentiae

Extracto de Acarus siro

Extracto de Acarus siro + Cheyletus spp.

Dichos extractos antigénicos han sido obtenidos a partir de cultivos puros de cada una de las especies (capítulo 2.2.3.), salvo en el caso de Cheyletus spp. que ha tenido que ser cultivado asociado a otro ácaro, dado su carácter depredador.

La extracción se ha realizado de forma similar a la ya señalada para el polvo doméstico.

2.3.2.3. Extractos de los medios de cultivo

Los medios de cultivo empleados para las diversas especies de ácaros han recibido el mismo tratamiento que los cultivos totales (ácaros + substrato) hasta la obtención del extracto liofilizado.

2.3.3. PREPARACION DE SOLUCIONES ANTIGENICAS A PARTIR DEL LIOFILIZADO.

Las soluciones antigénicas de los diversos extractos han sido obtenidas por dilución de 10 mg de liofilizado en 1 ml de Líquido de Coca, para los extractos de polvo doméstico, de D. pteronyssinus y D. farinae, de escamas epidérmicas humanas + 10% de levadura y de alimento para peces. Los correspondientes a A. siro, A. siro + Chey-letus spp., T. putrescentiae y germen de trigo, han sido preparados a la concentración de 25 mg/ml.

Las soluciones obtenidas de esta forma corresponden, aproximadamente, a una concentración de 1/10 (gramos de cultivo/ ml de solución). Las soluciones más diluídas, para la práctica de tests cutáneos o inmunodifusión, se han preparado a partir de las anteriores.

Para las soluciones antigénicas destinadas a la práctica de pruebas de escarificación y punción, el líquido de Coca ha sido sustituido por una solución del 50% v/v de líquido de Coca y glicerina anhidra.

2.3.4. ESTERILIZACION DE LAS SOLUCIONES ANTIGENICAS Y CONTROL DE ESTERILIDAD.

Una vez preparadas, las soluciones antigénicas han sido colocadas en viales de 10 ml y esterilizadas por Tyndalización. El control de esterilidad se ha realizado mediante siembra en medio de Saboureaux, para hongos, y en agar tioglicolato, para gérmenes anaerobios.

2.4. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS RELACIONES ANTIGÉNICAS EXISTENTES ENTRE LOS DIVERSOS EXTRACTOS DE POLVO DOMÉSTICO Y ACAROS:

2.4.1. MÉTODOS "IN VIVO"

2.4.1.1. Reactivo biológico: pacientes con atopias respiratorias.

De entre los métodos usados en Alergología para el diagnóstico de las atopias respiratorias mediante pruebas "in vivo" con extractos alérgicos, a la hora de escoger un método para la determinación de las relaciones antigénicas que puedan presentar los diversos extractos de polvo y ácaros en niños afectas de atopias respiratorias, nos hemos inclinado a favor del método de multipuntura. A pesar de conocer las falsas negatividades que pueda proporcionarnos esta técnica, los factores que nos han inducido a su aplicación son:

- a) Su elevado grado de especificidad (64, 123)
- b) El ser una técnica fácil de realizar y poco dolorosa, factor este último digno de tener en cuenta si consideramos el elevado número de extractos a ensayar y la poca edad de los pacientes.

Las pruebas de multipuntura se han realizado colocando una gota de cada uno de los extractos antigénicos, preparados para este fin, sobre la piel de la parte interna del antebrazo. Con una lanceta se han practicado de 10 a 15 pequeños pinchazos por encima de la gota, de forma que no se produjera derramamiento de sangre.

La lectura se ha realizado a los 20 minutos, valorando las reacciones obtenidas de acuerdo con la pauta siguiente:

Reacciones - : Aquellas que mostraban un área enrojecida limitada exclusivamente al área traumatizada, siempre inferior a los 3 mm de diámetro.

Reacciones + : Aquellas que mostraban un área enrojecida de un diámetro de 3 a 5 mm.

Reacciones ++ : Aquellas que mostraban un área enrojecida superior a los 5 mm de diámetro, con una pequeña pápula central de 1 a 3 mm.

Reacciones +++ : Aquellas en las que la pápula central era de 3 a 5 mm, rodeada por una zona enrojecida.

Reacciones ++++ : Aquellas que presentaban una pápula de un diámetro superior a 5 mm, generalmente irregular, de aspecto ameboide.

2.4.1.2. Reactivo biológico: conejos sensibilizados experimentalmente.

2.4.1.2.1. Sensibilización de los conejos

5 ml de solución antigénica (1/10), de cada uno de los extractos de polvo y ácaros, han sido emulsionados, por repetidos pases a través de una jeringa y aguja hipodérmica, en 5 ml de Adyuvante Completo de Freund (Difco).

Seis conejos albinos machos, de 2,5 a 3,5 kg de peso, han sido inoculados, por inyección subcutánea, con 1 ml de cada una de las emulsiones. Cada uno de los conejos ha sido inyectado con uno de los extractos a ensayar. Un séptimo animal usado como control, ha sido inoculado con una emulsión de líquido de Coca en Adyuvante completo de Freund.

2.4.1.2.2. Reacciones cutáneas

Los conejos sensibilizados han sido inyectados intradérmicamente en la espalda, previamente depilada, con 0,05 ml de cada una de las soluciones alergénicas, incluyendo las correspondientes a los medios de cultivo, a una concentración de $1/10^4$. El extracto al cual había

sido sensibilizado cada uno de los animales, se ha ensayado a tres concentraciones distintas ($1/10^3$, $1/10^4$ y $1/10^5$). Como prueba en blanco se han inyectado 0,05 ml de líquido de Coca.

Inmediatamente despues de practicar las inyecciones cutáneas, y con el fin de favorecer la lectura, se ha inyectado, en la vena marginal de la oreja, 1 ml de azul de Evans al 1% en solución salina, de acuerdo con la técnica utilizada por ISSHI y cols. (65, 66).

La lectura se ha realizado a los 30 minutos y a las 24 horas. Las reacciones producidas han sido valoradas de acuerdo con la superficie azulada, intensidad del color y presentia o no de pápula, siguiendo una pauta similar a la ya descrita en el apartado 2.4.1.1.

2.4.2. METODOS " IN VITRO"

2.4.2.1. Obtención de antisueros

Se han utilizado 6 conejos albinos machos, de 2,5 a 3,5 Kg de peso. Las emulsiones de las diversas soluciones antigénicas en Adyuvante Completo de Freund hanssido inyectadas subcutaneamente, inoculando cada uno de los conejos con uno de los 6 antígenos preparados.

A cada uno de los animales se le ha practicado una primera inyección de 1 ml de emulsión, seguida de otras tres inyecciones de recuerdo, espaciadas cada una una semana, de 0,5 ml. Doce días después, se les ha extraído sangre por punción en la vena marginal de la oreja, para probar la presencia de anticuerpos. Aquellos animales que no han dado resultados satisfactorios (conejos inoculados a D. farinae, T. putrescentiae, A. siro y A. siro + Cheyletus spp.) han recibido una quinta inyección de 0,5 ml de emulsión antigénica.

Quince días después de la última inyección, se ha extraído a cada uno de los conejos de 10 a 15 ml de sangre, por punción cardíaca.

Como anticoagulante se ha usado una solución al 1% de heparina anhidra.

La sangre extraída se ha centrifugado y el plasma se ha guardado en la nevera a -18°C , adicionado de 0,1 mg/ml de azida sódica.

2.4.2.2. Ensayos de inmunodifusión

Con cada uno de los antisueros obtenidos, se han practicado pruebas de inmunodifusión radial en gel de agar, por el método de OUCHTERLONY (88), frente a cada uno de los antígenos.

2.4.2.2.1. Preparación de la solución de gel de agar.

El gel de agar se ha preparado disolviendo 4 gr de agar puro (Behring) con 300 ml de agua destilada y 100 ml de solución tampón de fosfatos (0,15 mol/l, pH: 7,1). Esta solución se ha obtenido mezclando 67 ml de solución I y 33 ml de solución II:

Solución I:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 26,70 g
 Agua destilada c.s.p. 1 litro

Solución II:

KH_2PO_4 20,41 g
 Agua destilada c.s.p. 1 litro

La mezcla se ha calentado a 100°C, hasta obtener una solución de agar transparente. Como conservador se han añadido 40 mg de azida sódica.

2.4.2.2.2. Preparación de las placas de gel de agar.

Cada una de una serie de placas de 6 cm de lado, y niveladas horizontalmente, se ha cubierto con 11 ml de la solución de agar caliente. El agar solidificado se

ha perforado con un taladro adecuado, conectado a una bomba de vacío. El diámetro de cada uno de los orificios practicados ha sido de 0,3 cm, y se han situado distanciados 1,3 cm uno del otro (medidos de centro a centro). Después de la perforación se ha calentado una pequeña cantidad de gel de agar con unas gotas de agua y se ha depositado una gota de la solución previamente rebajada en cada uno de los orificios; de esta forma, el hueco entre el gel de agar y el fondo de la placa ha quedado obturado.

2.4.2.2.3. Realización de las pruebas de difusión en gel

0,1 ml, aproximadamente, de antisuero se han colocado en el orificio central de cada uno de los discos. En los orificios periféricos se han colocado 0,1 ml de antígeno a las diluciones de 1/10, 1/20, 1/40, 1/60 1/80 y 1/100.

Cada uno de los antisueños se ha ensayado con cada uno de los antígenos de polvo, ácaros y medios de cultivo, a las concentraciones antes indicadas.

Con el fin de evitar falsas negatividades, debido a la solubilidad del compuesto antígeno-anticuerpo por exceso o defecto de alguno de los dos componentes, aque

llos antígenos que no dieron precipitado frente a sus respectivos antisueros, han sido ensayados de nuevo, variando:

a) La concentración de antisuero.

b) La concentración de antígeno.

Las placas de agar se han guardado en cámara húmeda y la lectura se ha realizado a los 2-3 días.

2.5. CALCULOS ESTADISTICOS

La gran variabilidad que pueden presentar los datos obtenidos en cualquier estudio de tipo biológico, hace que su interpretación correcta sea difícil. El empleo de métodos estadísticos, adecuados a cada una de las experiencias realizadas, permite interpretar de forma razonada los resultados obtenidos.

Los principales test estadísticos aplicados en este trabajo son los que a continuación se indican. (SCHWARTZ (104)).

2.5.1. RELACION EXISTENTE ENTRE UNA REPARTICION OBSERVADA Y UNA REPARTICION TEORICA.

Para comparar la repartición observada con la repartición teórica de un caracter cualitativo de k clases se utiliza el test de χ^2 .

$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - c_i)^2}{c_i}$$

donde o_i = media aritmética observada
 c_i = media teórica.

La probabilidad correspondiente α se busca en la tabla de χ^2 para un número de grados de libertad (d.d.l.) $= k - 1$.

Si $\alpha > 5\%$ la diferencia entre las dos reparticiones no es significativa.

Si $\alpha \leq 5\%$ la diferencia es significativa y α mide su grado de significación.

Este test, aplicable siempre que se trate de comparar la relación existente entre dos caracteres cualitativos, puede emplearse como test no paramétrico en la comparación de la relación existente entre un caracter cualitativo, de k clases, y un caracter cuantitativo.

2.5.2. RELACION EXISTENTE ENTRE UN CARACTER CUANTITATIVO Y UN CARACTER CUALITATIVO. CALCULO DE LA MEDIA, VARIANZA, DESVIACION TIPO Y ERROR ESTANDAR.

Una serie de valores procedentes de un muestreo puede definirse mediante dos índices:

El primero es la media exacta ($\bar{x}$) para todas las muestras:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$$

siendo $\underline{x}$ una variable discontinua y $\underline{N}$ el número de muestras.

El segundo está destinado a medir la variabilidad de las $\underline{N}$ cantidades $\underline{x}$ alrededor de su media ($\bar{x}$), y recibe el nombre de varianza (σ^2).

$$\sigma^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N}$$

La raíz cuadrada de la varianza recibe el nombre de desviación tipo:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N}}$$

El cociente entre la desviación tipo y el número $\underline{N}$ de valores obtenidos en el muestreo es el error estandar (ϵ):

$$\epsilon = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N^2}}$$

Una vez calculado el error estandar, es posible calcular los límites fiduciarios del valor medio de la serie. Este valor estará comprendido entre dos límites, que estarán más separados entre si, cuanto mayor sea la probabilidad de acertar que se desee.

El valor medio, o media $\bar{x}$, está relacionado con el valor real por la siguiente expresión:

$$V.R. = \bar{x} \pm \epsilon t$$

en la que:

V.R. = valor real de la media

$\bar{x}$ = media aritmética calculada o experimental.

ϵ = error estandar

t = constante de Student

La constante t, o constante de Student, depende del grado de significación escogido, y se puede encontrar en las tablas de Student. Dichas tablas son de doble entrada, por un lado debe entrarse con los grados de libertad, que para una serie de n valores será (n-1), y por el otro con las probabilidades de acertar que se deseen(en nuestro caso 95%).

2.5.2.1. COMPARACION DE DOS GRUPOS

La igualdad o desigualdad de dos series de valores depende de la igualdad o desigualdad de sus medias ($\bar{x}$) y sus varianzas (σ^2), según el esquema adjunto:

Primera comparación: <u>varianzas</u>	Segunda comparación: <u>medias</u>
<u>Varianzas iguales</u> (La comparación de las medias es siempre posible, sea cual sea el valor de $\underline{n}$).	<u>Medias iguales</u> (Grupos totalmente iguales). <u>Medias distintas</u> (Grupos distintos).
<u>Varianzas distintas</u> (La comparación de las medias no es posible más que cuando las series tengan un elevado número de valores). En cualquier caso los dos grupos son distintos).	<u>Medias iguales</u> (Aun cuando las medias sean iguales, los dos grupos son diferentes). <u>Medias distintas</u> (Grupos totalmente distintos).

a). Comparación de varianzas

Para que dos varianzas sean consideradas como iguales, su cociente F debe ser teóricamente 1. Dicho valor F puede fluctuar entre unos márgenes conocidos (F_i y F_s) los cuales dependen del número de grados de libertad de las series y de la probabilidad de acertar, o de errar, que se desee.

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

(siendo σ_1^2 la varianza mayor).

El valor F calculado, se compara con un valor F_s tabulado en función de los grados de libertad ($n_1 - 1$) y ($n_2 - 1$) y del margen de error establecido. En las tablas de F las abscisas indican los grados de libertad del numerador y las ordenadas los del denominador.

Para un margen de error del 5% debe escogerse la tabla de F " 2,5%", puesto que en este caso el error es bilateral.



- Si $F < F_s$ la diferencia entre las dos varianzas no es significativa.
- Si $F \geq F_s$ la diferencia entre las dos varianzas es significativa. El grado de significación puede precisarse comparando F con el valor F_s de las tablas 1% y 1‰.

b). Comparación de medias

La comparación de dos medias, pertenecientes a series con distinto número de grados de libertad y distribuidas según las leyes normales de la misma varianza, está basada en el valor de t

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{d_i^2 + d_j^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}}$$

Dicho valor t se compara con un valor t' tabulado en las tablas de Student que se han citado ya al hablar de los límites fiduciarios.

El criterio de significación adoptado ha sido:

Si $t < t'$, para una probabilidad de acertar del 95%, la diferencia entre las dos medias No es significativa.

Si $t \geq t'$, para una probabilidad de acertar del 95%, la diferencia entre las dos medias es significativa.

Si $t \geq t'$, para una probabilidad de acertar del 99%, la diferencia entre las dos medias es altamente significativa.

c). Actuación simultánea de varios factores

Cuando en una determinación serial, los resultados obtenidos son consecuencia de la influencia de varios factores que actúan, o pueden actuar, simultáneamente, el análisis correcto de cada uno de estos factores no puede realizarse aisladamente, sino que debe hacerse considerando el conjunto de los factores que determinarán una respuesta dada.

Análisis de la varianza:

	Suma de los cuadrados de las desviaciones,	d.d.l.	Varianza
Factor 1	$\sum di^2$	n_1-1	$\sum di^2/n_1-1$
Factor 2	$\sum dj^2$	n_2-1	$\sum dj^2/n_2-1$
Residual	$\sum dj^2 - \sum di^2$	$(n_1-1)(n_2-1)$	$\frac{\sum dj^2 - \sum di^2}{(n_1-1)(n_2-1)}$

El cociente entre cada una de las varianzas correspondientes a los Factores 1 y 2, con la varianza residual dará un valor $\underline{F}$ que diferirá tanto más de la unidad cuanto mayor sea la probabilidad de la influencia del factor analizado en los resultados obtenidos.

El valor $\underline{F}$ hallado se compara con un valor $\underline{F'}$ tabulado, que dependerá de los grados de libertad de las dos varianzas comparadas y de la probabilidad de acertar que se desee.

Si $F > F'$, el factor analizado influye significativamente en el resultado obtenido.

2.5.3. RELACION EXISTENTE ENTRE DOS CARACTERES CUANTITATIVOS. CALCULO DEL COEFICIENTE DE CORRELACION Y DE LA RECTA DE REGRESION.

La dependencia o independencia entre dos variables cuantitativas (x e y) está basada en el cálculo del coeficiente r o coeficiente de correlación, que viene dado por la fórmula:

$$r = \frac{\sum (dx \cdot dy)}{\sqrt{(\sum dx^2)(\sum dy^2)}}$$

El valor r observado se compara con un valor r' tabulado, que depende de las probabilidades de acertar que se deseen y del número de grados de libertad (n-2), siendo n el número de pares de valores. Nosotros consideramos que si $r \geq r'$ para $\alpha = 0,05$, la correlación es significativa.

En aquellos casos en los que la correlación entre dos variables sea significativa, el coeficiente de correlación medirá también la intensidad de la interrelación.

Calculada la correlación entre los distintos puntos, se puede determinar la ecuación de la recta que mejor cumple con todos ellos. Esta ecuación será:

$$y = mx + b$$

en donde:

m = pendiente de la recta

b = ordenada en el origen

El valor de $\underline{m}$ se puede calcular por la fórmula:

$$m = \frac{\sum(dx \cdot dy)}{\sum dx^2}$$

y $\underline{b}$ se calcula según

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

2.5.4. ELIMINACION DE RESULTADOS ABERRANTES

En una determinación serial, algunos resultados se apartan a veces sensiblemente de los demás influyendo sobre el promedio y la dispersión hasta el punto de falsear la imagen del conjunto. Este hecho se hace más patente cuando, como en nuestro caso, se realiza un estudio de tipo ecológico, en busca de la posible influencia de diversos factores sobre la magnitud de una población acarina; factores que no se presentarán aisladamente, sino asociados a un gran número de circunstancias que influirán en el desarrollo de dicha población acarina.

Estos valores pueden ser eliminados basándose en el criterio de Chauvenet, según el cual debe prescindirse de los mayores de $1/\sigma (x-\bar{x})$, en donde σ representa la desviación tipo y $(x-\bar{x})$ la desviación del promedio, siendo:

x = valor en estudio

$\bar{x}$ = media aritmética de la serie.

El valor $c = 1/\sigma (x-\bar{x})$ se compara con un valor c' tabulado.

Si $c > c'$, el valor correspondiente del conjunto analizado puede ser eliminado con un margen suficiente de garantía para ser considerado como "aberrante".

Si $c \leq c'$, el valor correspondiente del conjunto analizado se considera que pertenece a la serie y por lo tanto no es eliminado.

Los valores de c' tabulados son distintos para cada caso y crecen a medida que el número N de valores analizados se hace mayor.

Una vez aplicado el test de Chauvenet, puede suceder que ninguno de los valores de la serie analizada sea eliminado. En este caso se considera a esta como homogénea. Si alguno de los valores, el mayor o el menor, queda excluido, se aplica nuevamente el criterio con los valores restantes y así sucesivamente hasta que la serie pueda considerarse definitivamente homogénea.

ACAROS DEL POLVO DOMESTICO. INVESTIGACIONES PERSONALES.
=====

3. ACAROS DEL POLVO DOMESTICO. INVESTIGACIONES PERSONALES.

3.1. COMPOSICION, DENSIDAD Y FRECUENCIA DE LA FAUNA ACARINA DEL POLVO DOMESTICO DE BARCELONA Y ALREDEDORES.

En el presente trabajo se han estudiado un total de 182 muestras de polvo doméstico, entendiendo como tal el polvo recogido del suelo, sofás, alfombras, rincones, etc., de las diversas dependencias normalmente habitadas de un mismo domicilio.

No se incluyen aquí las muestras recogidas de lugares específicos, como pueden ser los colchones, dormitorios, y determinados lugares que, por sus condiciones peculiares en el momento de recoger las muestras, nos parecieron idóneos para el desarrollo de una población acarina y de los que se tomaron muestras de polvo separadas.

El número total de ácaros recogidos, referido a 182 muestras de 5 g., ha sido de 124.900, habiendo resultado positivas el 100% de las muestras estudiadas.

La mayor representatividad, tanto por la frecuencia de su hallazgo (99,45% de muestras positivas), como por el número total de ácaros recogidos (46,53% de los ácaros aislados), ha correspondido a las especies pertenecientes a la familia Pyroglyphidae, y dentro de ellas a Dermatophagoides pteronyssinus, el cual se ha hallado presente en un

96,15% de las muestras, representando un 39,70% del total de los ácaros recogidos.

En el Cuadro nº 9 vienen indicadas las especies, familias y grupos de ácaros aislados, así como la frecuencia con que se presentaron en las muestras estudiadas, y su representación frente al número total de ácaros recogidos.

Es de señalar que aun cuando el número de Tarsonemus sp. recogidos ha sido muy elevado (36,17% del total de ácaros), casi todos ellos fueron hallados en dos muestras distintas, procedentes de la misma casa. El estudio de muestras aisladas de diversos lugares de la vivienda, que pudieran constituir el microhabitat adecuado para el desarrollo de una colonia acarina de este tipo, señaló como su posible procedencia unos sillones con asientos de enea que, guardados desde hacía varios años en un desván, habían sido recientemente trasladados al piso. En muestras tomadas posteriormente, no volvieron a encontrarse Tarsonemus sp. o, si se hallaron, fué en un número reducido. Hacemos hincapié en este dato por creer que pueda falsear la imagen del conjunto de especies de ácaros característica del polvo doméstico y dar una representatividad a Tarsonemus sp. que sin duda ha sido meramente ocasional.

En el Cuadro nº 10 se indican el número de muestras que resultaron positivas a las diversas especies de Pyroglyphidae, así como la frecuencia de infestación expresada en forma de tantos por cien y su representatividad frente al número total de Piroglifidos encontrados.

El hallazgo de tan solo 3 ejemplares de D. passericola, en una única muestra, nos hace suponer que la presencia de dicho ácaro en el polvo haya sido meramente ocasional, procedente quizá del plumaje o del nido de algún pájaro, posiblemente de Passer domesticus, aun cuando D. passericola sea de hallazgo frecuente en el polvo doméstico del Japón (78,87).

Malavoglyphus carmelitus, ha sido hallado también en una única muestra de polvo, si bien el número de ejemplares aislados (230 especímenes) descarta la hipótesis de una contaminación exterior. Dicho hallazgo significa la primera cita de M. carmelitus en el continente europeo (14).

En el Cuadro nº. 11 se indican los valores individuales de ácaros presentes en cada una de las muestras estudiadas, correspondientes al número total de ácaros presentes. Estos valores oscilan entre límites tan dispersos como 5 y 25.892 ácaros por muestras de 5 g de polvo. Esta dispersión, referida exclusivamente a los ácaros Pyroglyphidae, oscila asimismo dentro de unos límites muy amplios, entre 0 y 6.538 especímenes por muestra de 5 g. (Cuadro nº. 13)

Debido a la gran dispersión que presentan los resultados hallados, hemos creído conveniente eliminar resultados aberrantes, para tener, de esta forma, una idea más exacta de los valores medios de ácaros presentes en nuestra biocenosis pulvídica. En los Cuadros nºs. 12 y 14 se expresan los valores individuales, referentes al número total de ácaros y al número total de Pyroglyphidae presentes en las muestras, después de aplicar el criterio de Chauve-

net para la eliminación de resultados aberrantes. Se indican asimismo la media aritmética, desviación tipo y límites de confianza de los valores obtenidos.

		Nº total en 182 muestras	% del nº total de ácaros	% de muestras positivas
Orden ACARINA .		124.900	-	100
S.O. SARCOPTIFORMES	ACARIDIAE	68.935	55,20	99,45
	Pyroglyphidae	58.111	46,53	99,45
	Dermatophagoides			
	pteronyssinus.....	49.591	39,70	96,15
	D. farinae.....	5.349	4,28	52,20
	D. microceras.....	389	0,31	10,44
	D. passericola.....	3	0,00	0,55
	Malayoglyphus carmelitus.	230	0,18	0,55
	Euroglyphus maynei.....	2.449	2,04	41,21
	Tyroglyphidae	1.855	1,49	60,44
	Acarus siro.....	484	0,39	18,13
	Tyrophagus spp.....	1.371	1,10	47,80
	Glycyphagidae	8.948	7,16	46,70
	Glycyphagus domesticus...	2.821	2,26	25,82
	G. destructor.....	1.359	1,09	13,19
	G. privatus.....	3.345	2,68	17,58
	Gohieria fusca.....	353	0,28	8,79
	Chortoglyphus arcuatus...	1.041	0,83	6,04
	Carpoglyphus lactis.....	29	0,02	1,10
	Rhyzoglyphidae	21	0,02	1,65
ORIBATEI		1.507	1,21	38,46
S.O. TROMBIDIFORMES	TARSONEMINI	45.172	36,17	16,48
	Tarsonemus spp.....	45.136	36,14	14,84
	Pediculoides ventricosus.	36	0,03	2,75
	PROSTIGMATA	6.484	5,19	69,23
	Cheyletus spp.....	5.908	4,73	64,84
	Otros Prostigmata.....	576	0,46	15,38
* MESOSTIGMATA		2.414	1,93	47,80
Sin identificar.....		388	0,31	24,18

(*) S.O. PARASITIFORMES

CUADRO nº 9 .- Composición de la fauna acarina del pol-
vo doméstico de Barcelona y poblaciones
circundantes.

	A	B	C
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	175	96,15	85,34
<i>D. farinae</i>	95	52,20	9,20
<i>D. microceras</i>	19	10,44	0,67
<i>D. passericola</i>	1	0,55	0,01
<i>Malayoglyphus carmelitus</i>	1	0,55	0,40
<i>Euroglyphus maynei</i>	75	41,21	4,39

A.- Número de muestras positivas.

B.- % de muestras positivas.

C.- % del número total de representantes de la familia.

CUADRO N°. 10.- Representatividad de las diversas especies de Pyroglyphidae halladas en las 182 muestras analizadas.

17	11	144	192	99	231
16	22	175	161	44	270
12	85	256	246	56	990
41	17	316	44	116	1641
54	104	280	84	189	3480
366	43	549	221	15	91
292	140	1120	76	16	500
387	172	196	64	107	936
684	168	146	28	340	188
34	81	104	136	229	76
14	72	25892	248	84	1376
38	850	16607	185	122	829
111	3133	764	192	83	577
2561	16	610	226	664	308
145	470	572	26	130	433
299	277	632	92	1381	91
154	105	784	260	25	47
612	7830	218	188	176	369
5759	11	218	164	235	238
764	6726	267	35	38	289
5	88	436	62	176	232
56	983	200	24	281	148
18	178	1300	102	610	44
11	160	939	336	320	176
35	328	1973	132	296	224
720	299	1100	72	779	228
71	196	741	836	100	72
513	267	243	419	306	188
8	183	182	255	2000	405
19	136	259	230	75	1198
552	319				

Media aritmética ($\bar{x}$) = 689,4					
Desviación tipo (σ) = 2427,7					
Límites de confianza ($\pm t$) = 355,2					

Cuadro nº. 11 .- Valores individuales correspondientes al número total de ácaros presentes en las muestras de polvo estudiadas.

17	19	267	44	419	320
16	11	183	84	255	296
12	22	136	221	230	100
41	85	319	76	99	306
54	17	144	64	44	75
366	104	175	28	56	231
292	43	256	136	116	270
387	140	316	248	189	91
34	172	280	185	15	500
14	168	196	192	16	188
38	81	146	226	107	76
111	72	104	26	340	308
145	16	218	92	229	433
299	470	218	260	84	91
154	277	267	188	122	47
5	105	436	164	83	367
56	11	200	35	130	238
18	88	243	62	25	289
11	178	182	24	176	232
35	160	259	102	235	148
71	328	192	336	38	44
513	299	161	132	176	176
8	196	246	72	381	224
228	72	188	405		

Media aritmética ($\bar{x}$) = 164,8					
Desviación tipo (σ) = 120,4					
Límites de confianza ($\pm t$) = 20,0					

Cuadro nº 12 .- Valores individuales correspondientes al número total de ácaros presentes en las muestras de polvo estudiadas, después de la eliminación de resultados aberrantes.

13	9	144	122	20	238
14	16	165	39	36	673
12	2	242	13	104	1299
34	11	292	42	173	2557
46	42	270	139	0	91
363	27	531	28	16	365
275	62	1056	20	38	891
347	80	188	8	36	137
556	72	139	52	177	19
29	66	104	102	33	372
10	58	840	152	92	578
38	668	1118	181	80	52
107	3050	376	150	531	145
2080	15	425	20	81	375
145	467	352	80	1166	76
231	249	309	236	17	41
75	59	392	164	160	361
112	5568	81	164	97	212
174	11	85	25	10	246
376	6536	196	54	103	148
3	48	299	20	258	120
9	278	100	61	284	32
6	136	791	207	213	136
11	104	521	63	118	180
5	289	1377	40	547	215
46	175	855	709	83	36
49	144	648	309	262	167
124	255	200	178	1452	243
5	153	76	128	50	824
14	136	120	95	131	460
296	202				

Media aritmética ($\bar{x}$) = 319,5					
Desviación tipo (σ) = 730,6					
Límites de confianza ($\pm t$) = 106,9					

Cuadro nº13 .- Valores individuales correspondientes al número de Pyroglyphidae presentes en las muestras de polvo estudiadas,

13	5	255	39	128	50
14	14	153	13	95	131
12	296	136	42	20	238
34	9	202	139	36	91
46	16	144	28	104	365
363	2	165	20	173	137
275	11	242	8	0	19
347	42	292	52	16	372
29	27	270	102	38	52
10	62	188	152	36	145
38	80	139	182	177	375
107	72	104	150	33	76
145	66	376	20	92	41
231	58	425	80	80	361
75	15	352	236	81	212
112	467	309	164	17	246
174	249	392	164	160	148
376	59	81	25	97	120
3	11	85	54	10	32
9	48	196	20	103	136
6	278	299	61	258	180
11	136	100	207	284	215
5	104	200	63	213	36
46	289	76	40	118	167
49	175	120	309	83	243
124	144	122	178	262	460

Media aritmética ($\bar{x}$) = 132,8					
Desviación tipo (σ) = 113,7					
Límites de confianza (ξt) = 18,0					

Cuadro nº. 14 .- Valores individuales correspondientes al número de Pyroglyphidae presentes en las muestras de polvo estudiadas, después de la eliminación de resultados aberrantes.

3.2. INFLUENCIA DE DISTINTOS FACTORES

La influencia de diversos factores en la supervivencia y desarrollo de la población acarina pulvícula ha sido ampliamente discutida en el capítulo 1.2.3. de la Introducción de este trabajo.

El gran número de muestras recogidas nos ha permitido el estudio del papel ejercido por algunos de ellos en el desarrollo de esta biocenosis.

Aun cuando la temperatura influya en la supervivencia y desarrollo de los ácaros, no se estudia aquí debido a:

- 1º. Los límites máximos y mínimos de temperatura que tienen una influencia real en el desarrollo de los ácaros son muy extremos.
- 2º. Dichos límites no se consiguen nunca en el ambiente doméstico de Barcelona ya que, dentro de las condiciones climáticas de nuestra ciudad, no se alcanzan nunca tales valores extremos. (Ver Cuadro nº 34).
- 3º. La influencia de estas temperaturas límites está su-
peditada a las condiciones de H.R. ambiental (ver 2.2.1.).
- 4º. Las mediciones de la temperatura de los domicilios estudiados, en el momento de la toma de las muestras

no son representativas de las temperaturas medias que soportan los ácaros pulvícolas en su biotopo.

5º. La temperatura media mensual atmosférica tampoco es representativa de la temperatura real de la vivienda (influencia de sistemas de calefacción, aire acondicionado, etc.).

Los factores cuya posible influencia se estudia son aquellos que, además de parecernos de importancia, pudimos valorar, fuera cuantitativamente o cualitativamente, en el momento de la toma de las muestras. Dichos factores son los siguientes: humedad, época y lugar de recogida de las muestras y métodos de limpieza empleados en los domicilios en los que se han practicado las recogidas.

3.2.1. HUMEDAD RELATIVA

Al realizar la toma de cada una de las muestras, se midió la humedad relativa ambiental del domicilio estudiado con un higrómetro de precisión (Lambrecht); la lectura se realizó después de dejar el higrómetro en reposo durante media hora, permaneciendo las puertas y ventanas que comunicaban con el exterior cerradas.

Para proceder al estudio de la posible relación existente entre la H.R. y el número de ácaros presentes en cada una de las muestras, éstas han sido agrupadas de la siguiente forma:

H.R. < 47,5% -- Muestras cuya humedad relativa era inferior al 47,5%

H.R. ~ 50% -- Muestras cuya humedad relativa estaba comprendida entre 47,5 y 52,5%.

H.R. ~ 55% -- Id. Id. entre 52,5 y 57,5 %.

H.R. ~ 60% -- Id. Id. entre 57,5 y 62,5 %.

H.R. ~ 65% -- Id. Id. entre 62,5 y 67,5 %.

H.R. ~ 70% -- Id. Id. entre 67,5 y 72,5 %.

H.R. > 72,5%

De cada uno de los grupos se ha calculado la media aritmética y los límites de confianza de la misma, antes y después de aplicar el test de Chauvenet para la eliminación de resultados aberrantes. (Cuadros nºs. 15 al 19 y nºs. 24 al 28).

En el análisis estadístico de los resultados obtenidos se han omitido aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era inferior al 47,5% y superior al 72,5%, dado el escaso número de muestras recogidas en estas condiciones, lo que imposibilita el reconocimiento y ulterior eliminación de los resultados aberrantes.

Con los resultados obtenidos se ha procedido a averiguar:

- a). Si existe variación significativa entre la media obtenida para cada uno de los grupos. "Test del χ^2 ".

En caso positivo se ha calculado:

- b). Si la relación existente entre la humedad relativa ambiental y el número de ácaros presentes en una determinada muestra es de tipo lineal, logarítmico o exponencial. "Cálculo del coeficiente de correlación (r)".

Si consideramos la H.R. medida en el momento de la toma de muestras como un carácter meramente cualitativo, la aplicación del test del χ^2 muestra que el número de ácaros presentes en las diversas muestras de polvo va-

ría de forma altamente significativa al variar la H.R. ambiental de la vivienda (Cuadros n^{os} 20 y 29). Sin embargo, al considerar este dato (H.R.) como un carácter estrictamente cuantitativo, mediante el cálculo del coeficiente de correlación (r) no se ha encontrado correlación significativa entre los dos factores estudiados (H.R. y número de ácaros) (Cuadros n^{os} 21, 22, 23, 30, 31 y 32).

130	741 -	44	16	6
610 -	18	76	148	81
289	35	248	228	39
405	70	88	267	320
319	19	62	183	500 -
218	17	836 -	196	1376 -
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 245,68 \pm 132,81$				
Despues de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \xi t = 140,9 \pm 48,7$				

(-) Resultado eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 15.- Valores individuales del número total de ácaros hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 50%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

12	95	277	72
552 ~	192	176	132
196	102	381	107
146	116	100	
218	340	175	
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 188,3 \pm 64,6$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 166,9 \pm 49,3$			

(-) Resultado eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº. 16.- Valores individuales del número total de ácaros hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 55%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

6782 -	145	8	255	292
2000 -	256	13	99	72
270	280	104	235	1300 -
76	784 -	43	176	16
224	200	64	779 -	164
34	56	11	306	
38	11	188	829 -	
111	513 -	72	54	
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 455,68 \pm 380,68$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 129,10 \pm 36,95$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 17.- Valores individuales del número total de ácaros hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 60%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

296	44	140	188	168
936 -	188	246	369	161
308	14	26	299	136
366	5799 -	850 -	267	230
382	22	549 -	172	229
231				
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 485,23 \pm 216,90$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 203,73 \pm 49,44$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº. 18.- Valores individuales del número total de ácaros pallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 65%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

1381 -	91	610	260	684
75	238	572	419	328
990 -	2561 -	182	44	1739 -
577	154	192	6409 -	2520 -
433	612	92	47	720
				226
$\bar{x}_1 \pm \ell t = 852,15 \pm 260,69$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \ell t = 327,80 \pm 107,91$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 19.- Valores individuales del número total de ácaros hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 70%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

$\bar{x}_{(50)} = 140,9$ $\bar{x}_{(55)} = 166,9$ $\bar{x}_{(60)} = 129,1$ $\bar{x}_{(65)} = 203,7$ $\bar{x}_{(70)} = 327,8$	$\bar{x} = 164,8$	$ddl = 3$
$\chi^2 = 29,59$ $\chi'^2(\text{para } \alpha = 0,001) = 16,27$ $\chi^2 > \chi'^2 \longrightarrow \underline{\text{hay variación significativa.}}$		

CUADRO nº 20 .- Analisis estadístico de los resultados de los cuadros nº 15, 16,17,18,19
Test del χ^2 .

H.R. (x)	$\bar{x}_{(H.R.)}$ (y)	ddl	
50	140,9	3	
55	166,9		
60	129,1		
65	203,7		
70	327,8		

$r = 0,8348$
 $r' (\text{para } \alpha = 0,05) = 0,8783$
 $r < r' \longrightarrow$ No existe correlación significativa

CUADRO nº 21 .- Análisis estadístico de los resultados
 de los cuadros nº 15, 16,17,18,19.
 Cálculo del coeficiente de correlación.

H.R. (x)	$\log \bar{x}_{(H.R.)} (y)$	ddl	
50	2,1488	3	
55	2,2225		
60	2,1109		
65	2,3090		
70	2,5156		

$r = 0,8050$

$r' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 0,8783$

$r < r' \longrightarrow$ No existe correlación significativa

CUADRO nº 22 .- Analisis estadístico de los resultados de los cuadros nº.15,16,17,18,19. Cálculo del coeficiente de correlación (relación logarítmica).

	$\bar{x}_{(H.R.)}$		
log H.R. (x)	%	Probits (y)	ddl.
1,6990	14,5	3,9419	3
1,7404	17,2	4,0537	
1,7782	13,3	3,8877	
1,8129	21,0	4,1936	
1,8451	33,8	4,5821	
$r = 0,7838$ $r' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 0,8783$ $r < r' \longrightarrow$ No existe correlación significativa.			

CUADRO nº 23 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nº15,16,17,18 y 19
Cálculo del coeficiente de correlación (relación exponencial).

81	648 -	13	14	3
284	6	28	120	66
246	5	92	215	10
243	49	48	255	213
296	14	54	153	365
81	11	709 -	188	372
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 162,73 \pm 67,67$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 125,89 \pm 46,04$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 24.- Valores individuales del número de Pyroglyphidae hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 50%. Media aritmética y límites de confianza de la misma antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

12	2	249	58
460 -	181	160	63
144	61	258	38
139	104	83	
85	36	165	
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 127,67 \pm 55,44$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 108,12 \pm 39,48$			

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 25.- Valores individuales del número de Pyroglyphidae hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 55%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

6590 -	145	5	178	275
1452 -	242	11	95	36
238	270	42	97	781 -
19	392 -	27	103	15
180	100	20	547 -	164
29	9	3	262	
38	11	164	578 -	
107	124	40	46	
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 365,54 \pm 363,58$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 99,84 \pm 32,71$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO nº. 26.- Valores individuales del número de Pyroglyphidae hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 60%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

118	32	62	137	72
891 -	167	39	361	122
145	10	20	175	52
363	224	668 -	196	128
347	16	531 -	80	177
211				
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 205,54 \pm 86,09$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 141,48 \pm 22,29$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 27.- Valores individuales del número de Pyroglyphidae hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 65%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

1166 -	76	425	236	556 -
50	212	352	309	289
673 -	2080 -	76	20	840 -
52	75	120	5457 -	1098 -
375	112	80	41	46
				150
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 575,62 \pm 444,89$				
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \xi t = 162,95 \pm 62,51$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N°. 28.- Valores individuales del número de Pyroglyphidae hallados en aquellas muestras para las cuales la H.R. ambiental era 70%. Media aritmética y límites de confianza de la misma, antes y despues de eliminar resultados aberrantes.

$\bar{x}_{(50)} = 125,9$ $\bar{x}_{(55)} = 108,1$ $\bar{x}_{(60)} = 99,8$ $\bar{x}_{(65)} = 141,5$ $\bar{x}_{(70)} = 162,9$	$\bar{x} = 132,8$	$ddl = 3$	
$\chi^2 = 20,54$ $\chi'^2 = (\text{para } \alpha = 0,001) = 16,27$ $\chi^2 > \chi'^2 \longrightarrow \underline{\text{Hay variación altamente significativa}}$			

CUADRO n.º. 29 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros n.º24,25,26,27 y 28
Test de χ^2 .

H.R. (x)	$\bar{x}_{(H.R.)}$ (y)	ddl	
50	125,9	3	
55	108,1		
60	99,8		
65	141,5		
70	162,9		

$r = 0,6667$

$r' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 0,8783$

$r < r' \longrightarrow$ No existe correlación significativa

CUADRO nº 30 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nº24,25,26,27 y 28
Cálculo del coeficiente de correlación (relación lineal).

H.R. (x)	$\log \bar{x}_{(H.R.)} (y)$	ddl	
50	2,1000	3	
55	2,0338		
60	1,9991		
65	2,1507		
70	2,2199		
$r = 0,6350$			
$r' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 0,8783$			
$r < r' \longrightarrow \underline{\text{No existe correlación significativa}}$			

CUADRO nº 31 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nº24,25,26,27 y 28
Cálculo del coeficiente de correlación (relación logarítmica).

	$\bar{x}_{(H.R.)}$		
log H.R. (x)	%	Probits (y)	ddl
1,6990	19,7	4,1476	3
1,7404	16,9	4,0419	
1,7782	15,6	3,3890	
1,8129	22,2	4,2345	
1,8451	25,5	4,3412	

$r = 0,2096$

$r' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 0,8783$

$r < r' \longrightarrow$ No existe correlación significativa

CUADRO nº 32 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nº 24,25,26,27 y 28.
Cálculo del coeficiente de correlación (relación exponencial).

3.2.2. EPOCA DEL AÑO

El polvo procedente de 6 viviendas, situadas en tres zonas de distinto caracter urbano del área metropolitana de Barcelona, fué recogido, a intervalos mensuales, durante el periodo comprendido entre septiembre de 1972 a enero de 1974.

La procedencia de las muestras fué:

Muestras 6, 22 y 35	Hospitalet de Llobregat
Muestra 7	Zona del Ensanche
Muestras 8 y 37	Sarriá

Las cifras de ácaros hallados, con relación a la totalidad de las especies y a las pertenecientes a la familia Pyroglyphidae, en cada una de las tomas, vienen expresadas en los Cuadros nºs 33 y 36.

En este caso no hemos creído conveniente proceder a la eliminación de resultados aberrantes puesto que, al tratarse de muestras procedentes de los mismas viviendas y tomadas siempre de los mismos lugares, quedaban ya eliminados la mayoría de los factores que pueden influir en la composición de la fauna acarina doméstica (ubicación de la vivienda, microhabitats y trofismo de la fauna acarina, tipo de limpieza utilizado, etc.).

A partir de los resultados obtenidos observamos que la variación estacional del número de ácaros presentes en el polvo doméstico no sigue una regla fija, superponible a todos los años. El gran incremento hallado en las tomas de septiembre y octubre de 1973 (Cuadro nº 33) no coincide con las cifras obtenidas en el mismo periodo de tiempo del año anterior. A la vista de estas discordancias hemos creído conveniente comparar estos resultados con las variaciones climáticas de H.R. y temperatura atmosféricas, medidas durante el mismo periodo de tiempo. (Datos facilitados por el Servicio Meteorológico Municipal) (Cuadro nº 34).

Si colocamos en una gráfica las medias mensuales del número de ácaros presentes en el polvo y superponemos ésta gráfica a la de los valores medios de H.R. atmosférica, observamos que existe entre ellas un casi perfecto paralelismo (Gráfica nº 5). Este paralelismo es tanto más notorio, cuando las inflexiones que experimenta la gráfica de la H.R. preceden siempre a las de la gráfica de la densidad acarina del polvo. Este dato muestra que al aumentar la H.R. atmosférica, el desarrollo de la población acarina del polvo está notablemente beneficiado, por lo que las muestras tomadas posteriormente contienen un mayor número de ácaros y viceversa.

Como paso siguiente hemos creído interesante averiguar cual es el tipo de relación existente entre la H.R. atmosférica y la densidad de la población acarina del pol-

vo doméstico. Al colocar los valores hallados en los ejes de coordenadas, en los que las abscisas representan la H.R. del mes anterior a la toma de las muestras de polvo y las ordenadas la media mensual de los ácaros hallados en dichas muestras, vemos que los diversos puntos obtenidos tienden a situarse en el trayecto de una parábola (Gráfica n^os 6 y 8).

Si efectuamos un cambio de base en las ordenadas (sustitución de los valores hallados por sus logaritmos decimales) podemos transformar dicha curva en una recta, y calcular de esta forma el coeficiente de correlación (r) y la ecuación de la recta de regresión (Cuadros n^os 35 y 37) (Gráficas n^os 7 y 9).

El coeficiente de correlación calculado ($r = 0,7817$) nos indica que la correlación existente entre la H.R. atmosférica y el logaritmo del número de ácaros presentes en el polvo es altamente significativa ($\alpha < 0,001$).

Número de la muestra							
(Año 1972)	6	7	8	22	35	37	Media
Septiembre	684	299	764	168	88	178	363,5
Octubre	369	328	610	182	260	44	298,8
Noviembre	238	299	572	192	-	56	271,4
Diciembre	298	196	632	161	188	116	265,2
(Año 1973)							
Enero	232	267	784	246	164	189	313,7
Febrero	148	183	218	44	35	-	125,6
Marzo	44	136	218	84	62	15	93,2
Abril	176	144	-	221	24	-	141,3
Mayo	224	175	267	76	102	16	143,3
Junio	228	256	436	64	336	-	264,0
Julio	72	316	200	28	132	-	149,6
Agosto	188	280	1300	136	72	107	347,2
Septiembre	405	549	939	248	836	340	552,8
Octubre	1198	1120	1973	185	419	-	979,0
Noviembre	552	196	1100	192	255	229	420,7
Diciembre	319	146	741	226	230	84	291,0
(Año 1974)							
Enero	259	104	243	26	99	122	142,2

CUADRO Nº 33.- Valores individuales del número de ácaros presentes en cada una de las tomas de polvo doméstico efectuadas y medias mensuales

	temperatura °C	H. R. %
<u>Año 1972</u>		
Agosto	22,1	69
Septiembre	19,1	70
Octubre	17,2	72
Noviembre	15,3	70
Diciembre	11,7	68
<u>Año 1973</u>		
Enero	10,9	62
Febrero	10,3	56
Marzo	11,1	61
Abril	12,9	64
Mayo	17,7	69
Junio	21,4	67
Julio	24,7	60
Agosto	24,4	73
Septiembre	22,2	78
Octubre	17,5	69
Noviembre	14,0	71
Diciembre	10,7	67
<u>Año 1974</u>		
Enero	10,5	69

CUADRO Nº 34.- Valores medios mensuales de H.R. y temperatura atmosférica durante el periodo comprendido entre Agosto de 1972 a Enero de 1974.

H.R.	Nº. de ácaros	log.nº.ácaros	N
69	363,5	2,5605	15
70	298,8	2,4754	
72	271,4	2,4336	
70	265,2	2,4235	
68	313,7	2,4965	
62	125,6	2,0990	
56	93,2	1,9694	
61	141,3	2,1501	
64	143,3	2,1563	
69	264,0	2,4216	
67	149,6	2,1750	
60	347,2	2,5406	
73	552,8	2,7505	
78	979,0	2,9908	
69	420,7	2,6239	
71	291,0	2,4639	
67	142,2	2,1529	
$r = 0,7817$			
$r' \text{ (para } \alpha = 0,001) = 0,7247$			
$r > r' \rightarrow$ <u>Existe correlación altamente significativa</u>			
$b = -0,1526$			
$m = 0,0379$			

CUADRO nº 35 .- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nº 33 y 34.
Cálculo del coeficiente de correlación y de la recta de regresión.

Número de la muestra							
(Año 1972)	6	7	8	22	35	37	Media
Septiembre	556	231	376	132	48	136	246,5
Octubre	361	289	425	76	236	20	234,5
Noviembre	212	175	352	120	-	36	179,0
Diciembre	246	144	309	122	164	104	181,5
(Año 1973)							195,2
Enero	148	255	392	39	164	173	78,4
Febrero	120	153	81	13	25	-	58,2
Marzo	32	136	85	42	54	0	127,0
Abril	136	144	196	139	20	-	124,8
Mayo	180	165	299	28	61	16	124,8
Junio	215	242	-	20	207	-	171,0
Julio	36	292	100	8	63	-	99,8
Agosto	167	270	791	52	40	38	226,3
Septiembre	243	531	521	102	709	36	323,7
Octubre	824	1056	1377	152	309	-	743,6
Noviembre	460	188	855	181	178	117	339,8
Diciembre	296	139	648	150	128	33	232,3
(Año 1974)							
Enero	202	104	200	20	95	92	118,8

Cuadro nº. 36 .- Valores individuales del número de Pyroglyphidae presentes en cada una de las tomas de polvo doméstico efectuadas y medias mensuales.

H.R.	Nº <u>Pyroglyphi.</u>	log. nº. P.	N
69	246,5	2,3918	15
70	234,5	2,3701	
72	179,0	2,2529	
70	181,5	2,2587	
68	195,2	2,2904	
62	78,4	1,8943	
56	58,2	1,7647	
61	127,0	2,1038	
64	124,8	2,0962	
69	171,0	2,2330	
67	99,8	1,9991	
60	226,3	2,3547	
73	323,7	2,5100	
78	743,6	2,8714	
69	339,8	2,5312	
71	232,3	2,3661	
67	118,9	2,0753	

$r = 0,7879$

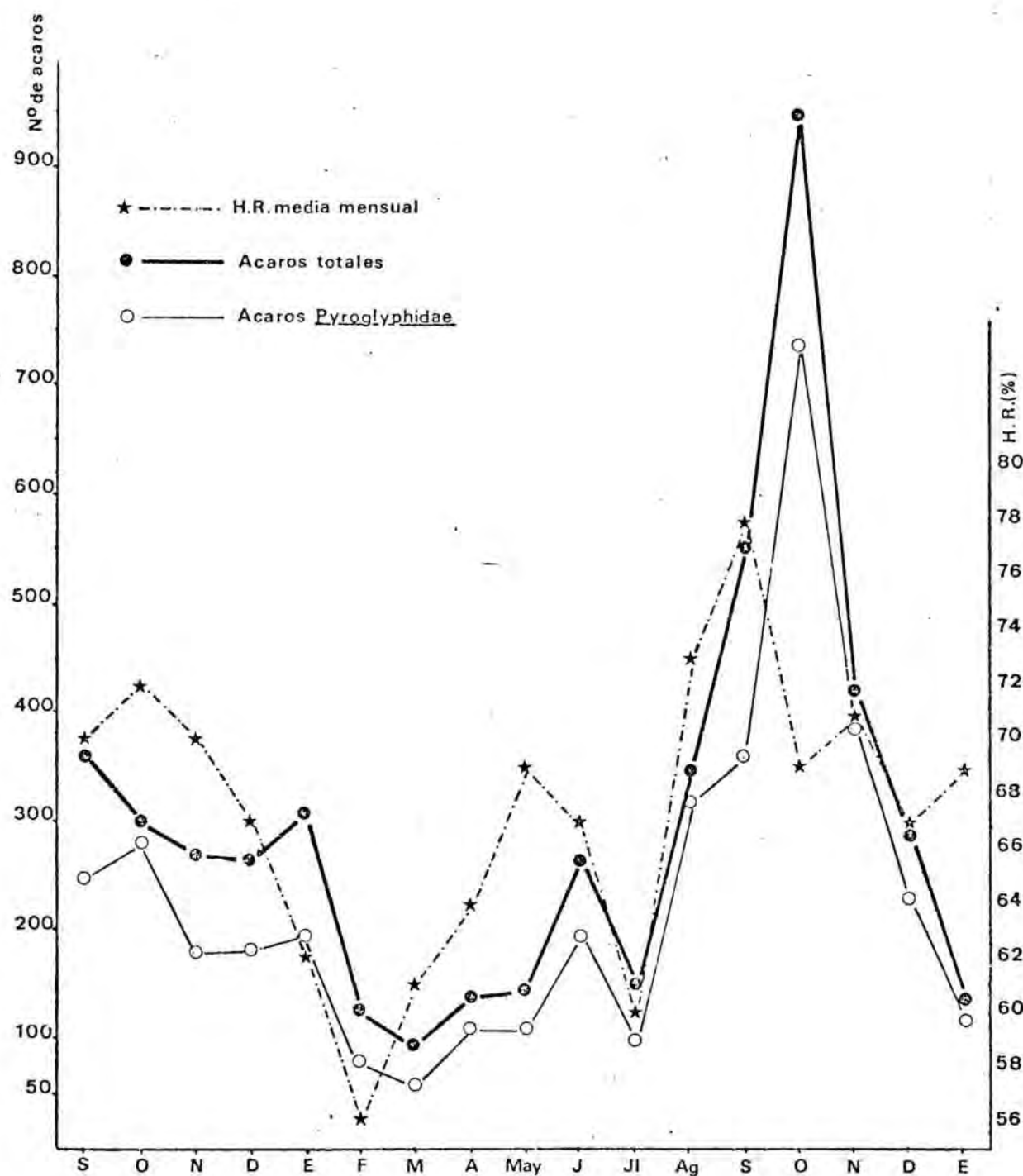
$r'(\text{para } \alpha=0,001) = 0,7247$

$r > r' \longrightarrow$ Existe correlación altamente significativa

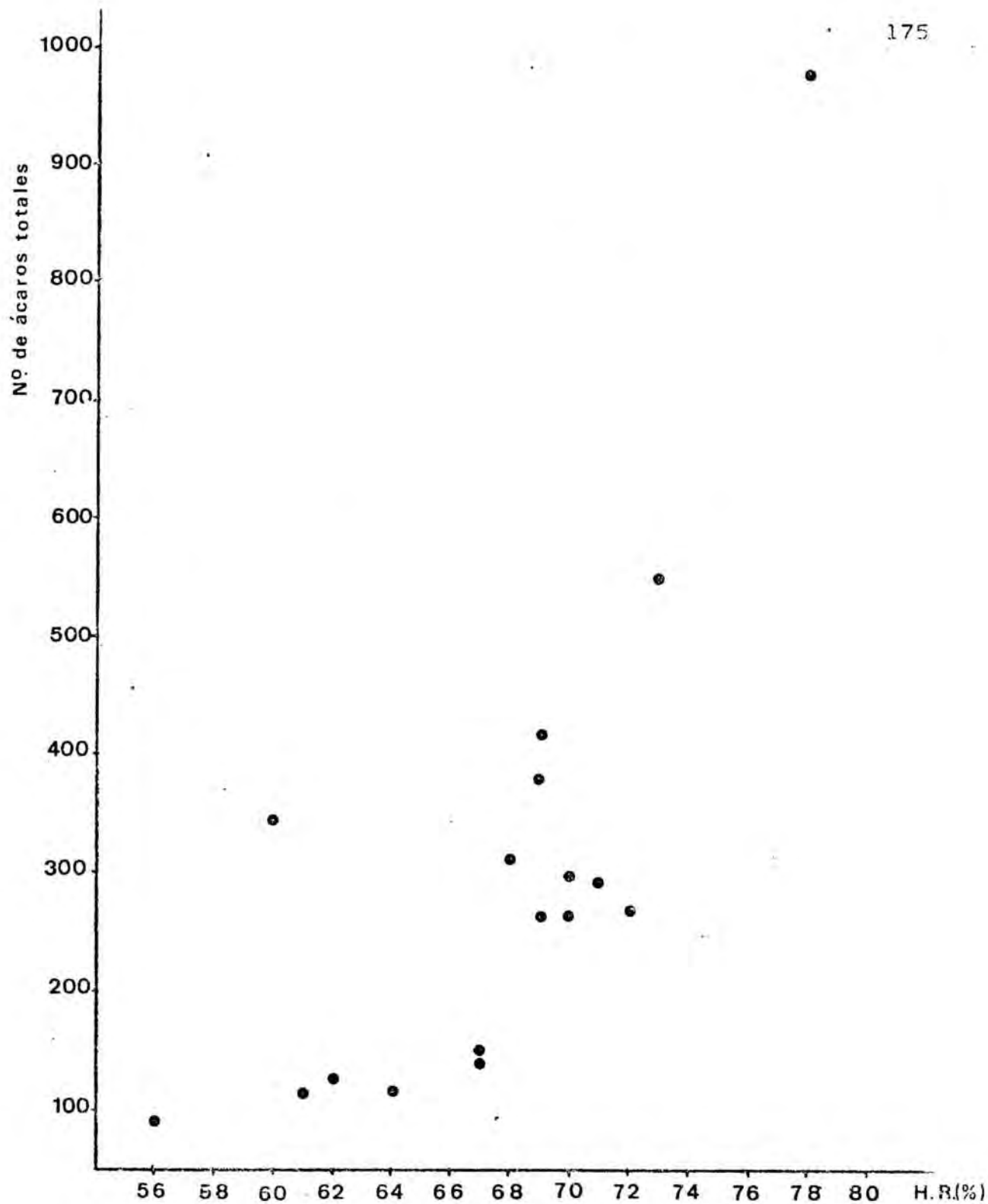
$b = -0,3160$

$m = 0,0382$

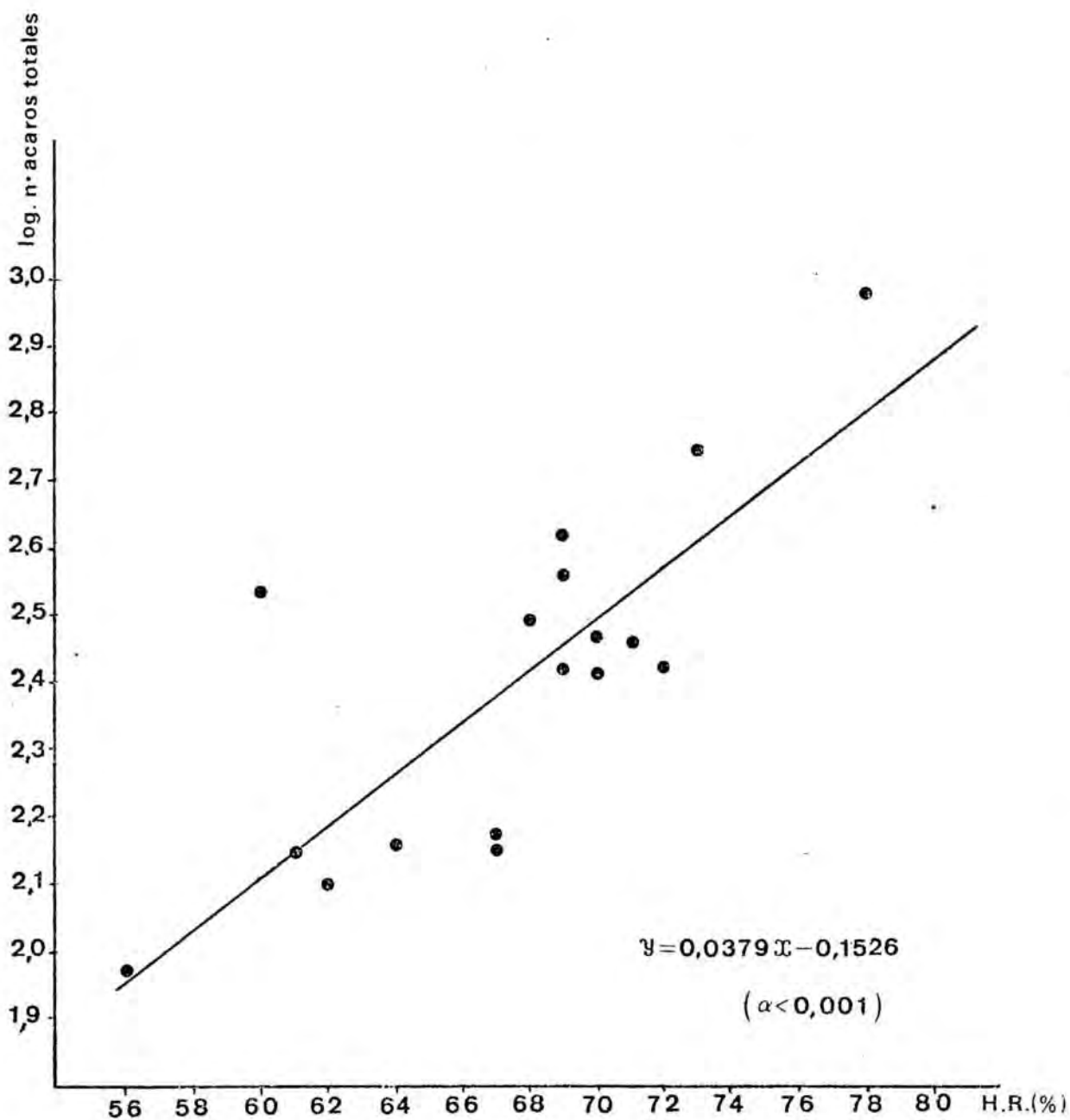
CUADRO Nº. 37.- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nºs 34 y 36. Cálculo del coeficiente de correlación y de la recta de regresión.



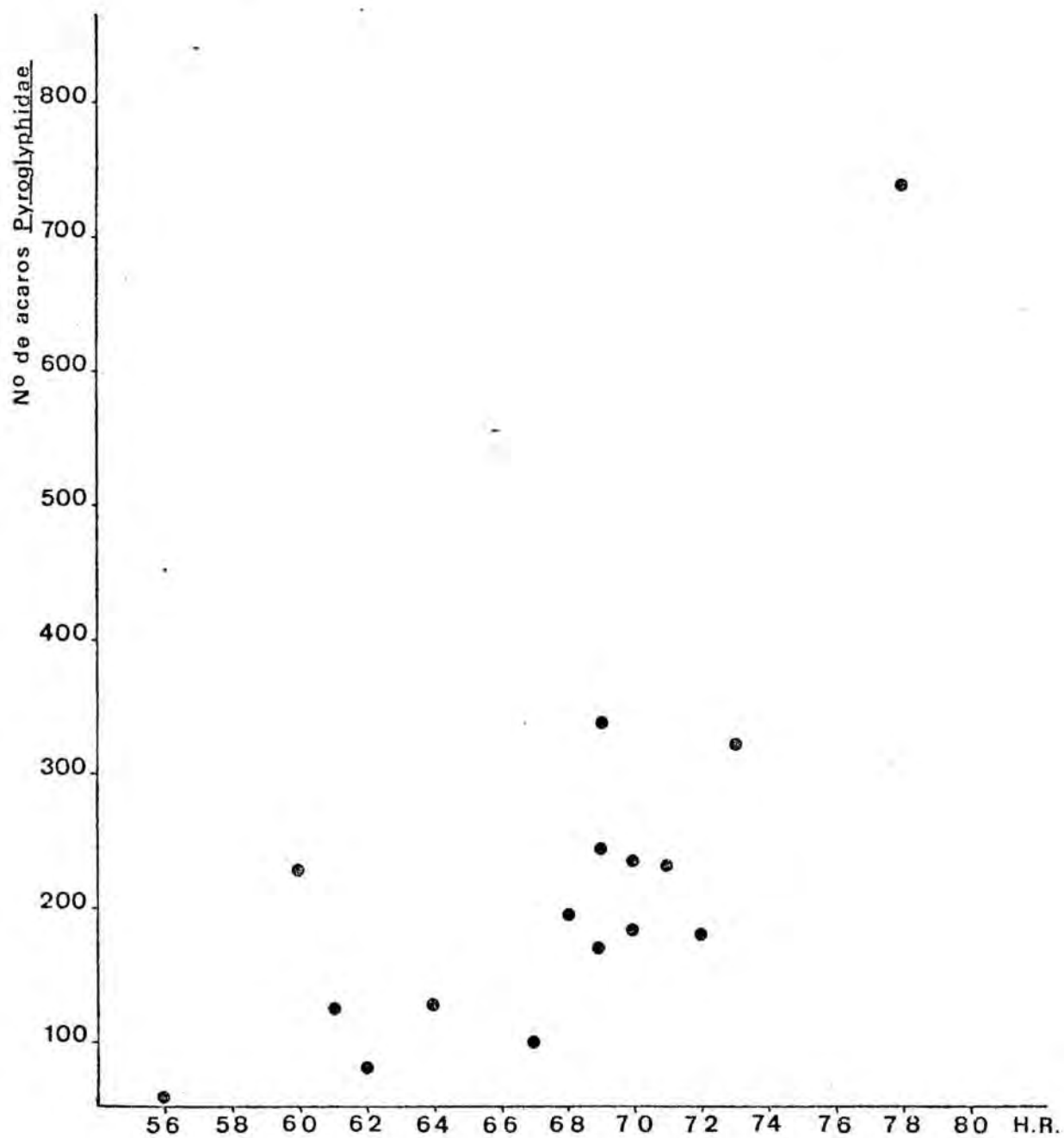
GRAFICA Nº 5



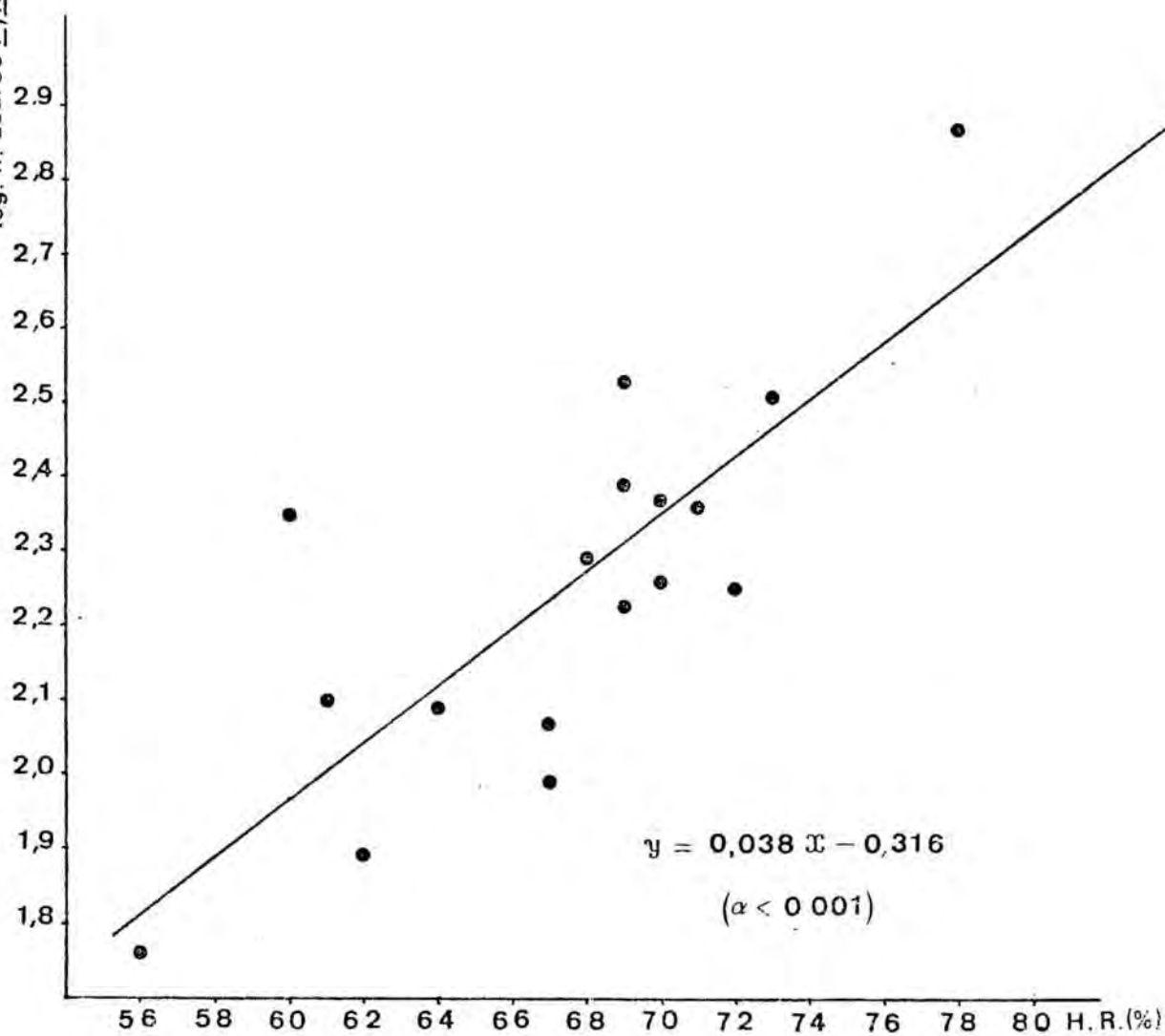
GRAFICA Nº 6



GRAFICA Nº 7



GRAFICA Nº8

log. n: acaros Pyroglyphidae

GRAFICA Nº 9

3.2.3. LUGAR DE RECOGIDA

En 37 de los domicilios en los que se recogieron muestras de polvo, la toma se hizo de forma fraccionada, recogiendo aisladamente el polvo procedente de distintos microhabitats.

Puesto que en todas las casas en que se realizó este tipo de toma de muestras habitaba algún niño, el cual había manifestado positividad notable al test cutáneo con alergeno de polvo doméstico, la toma se hizo de los siguientes microhábitats:

- a) Colchón del paciente
- b) Suelo de su habitación
- c) Resto del piso (comedor, sala de estar, pasillos, cocina, etc.).
- d) Colchón de los padres (opcional)

La toma de polvo del colchón de los padres se realizó en aquellos casos en que el niño dormía frecuentemente junto a los mismos, o bien en aquellos otros en que el colchón era muy antiguo, de lana, etc., y que parecía lugar apropiado para el desarrollo de una abundante fauna acarina.

La composición cuantitativa de las muestras recogidas ha variado de forma notable en unos y otros microhábitats. La mayor densidad de ácaros se ha hallado siempre en las muestras procedentes de los colchones ($\bar{x} = 4406,18$). Siguen a estas en importancia las recogidas en el suelo de los dormitorios, donde la media de ácaros hallados, referida como siempre a muestras de 5 g, ha sido de 840,00. Las cifras más bajas se han obtenido de las muestras recogidas en el "resto del piso", con una media de 338,5 ácar./5 g de polvo. (Cuadros nºs 38,39,40, 44,45 y 46).

La naturaleza del colchón no ha mostrado, sin embargo, influir en la composición cuantitativa de la fauna de ácaros presente en el mismo (Cuadros nºs. 41, 42, 43, 47, 48 y 49).

En el Cuadro nº 50 se indica la composición cualitativa de la acarofauna del polvo doméstico recogido en los tres microhábitats antes señalados.

277	235	100	1641 -	1376 -
6409 -	38	306	3480 -	829
664	176	2000 -	91	577
6782 -	381	75	500	308
130	610	231	936	433
1381 -	320	270	188	91
25	296	990	76	47
176	779			
$\bar{x}_1 \pm \Sigma t = 897,95 \pm 513,87$				
Después de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \Sigma t = 338,50 \pm 103,65$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO Nº 38 .- Composición cuantitativa de las distintas muestras de polvo recogidas en el "resto del piso".

7830 -	239	1309	618	1035
147	2267	1118	1840	253
6310 -	420	1463	320	586
40	1773	490	977	7900 -
130	1067	4123 -	2333	3509 -
3413 -	2807 -	1060	907	600
200	50	455	650	5457 -
1813	200			
$\bar{x}_1 \pm \varepsilon_t = 1775,92 \pm 699,71$				
Después de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \varepsilon_t = 840,00 \pm 255,56$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO Nº. 39 .- Composición cuantitativa de las distintas muestras de polvo recogidas en el suelo del dormitorio. Media aritmética y límites de confianza.

8540	2420	1123	1749	2133
773	3733	13680	2084	492
2100	15208 -	1571	4576	6467
514	9633	354	2651	4500
400	1200	7830	612	7276
2127	3480	448	11844	606
6710	1665	13783	9733	2457
3167	4102	6409	10650	1923
7513	5800	7298	6350	5350
552				
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 4660,56 \pm 1200,14$				
Después de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \xi t = 4406,18 \pm 1127,92$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO N°40 .- Composición cuantitativa de las distintas muestras de polvo recogidas en el "colchón".

7830	2651	4500	773	5800
448	612	506	2100	1123
13783	11844	2457	400	13680
6409	9733	1923	2127	1571
7298	10650	5350	3167	354
1749	492	8540	4102	6350
4576				
$\bar{x}_1 \pm \varepsilon_t = 4609 \pm 1498,22$				

(No se ha eliminado ningún dato).

CUADRO Nº 41 .- Composición cuantitativa de las distintas muestras de polvo recogidas en "colchones de espuma".

514	3733	1665
6710	15208 -	2084
7513	9633	6467
552	1200	7276
2420	3480	
$\bar{x}_1 \pm \varepsilon t = 4889,64 \pm 2410,70$		
Despues de eliminar resultados aberrante $\bar{x}_2 \pm \varepsilon t = 4095,92 \pm 1845,78$		

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO N° 42 .- Composición cuantitativa de las distintas muestras de polvo recogidas en "colchones de lana".

e	1	F	t	N
$\bar{x}_e = 4609,61$	$\bar{x}_1 = 4095,92$	1,79	0,4071	42
$\sigma_e = 4084,49$	$\sigma_1 = 3054,46$			
$n_e = 31$	$n_1 = 13$			
$s_e^2 = 16683058,56$	$s_1^2 = 9329725,89$			
F' (para un error del 2,5 %) = 2,96 $F < F' \longrightarrow$ las dos varianzas <u>no difieren significativamente</u>				
t' (para $\alpha = 0,05$) = 2,0181 $t < t' \longrightarrow$ las dos medias <u>no difieren significativamente.</u>				

CUADRO Nº 43 .- Analisis estadistico de los resultados de los cuadros nº 41 y 42.

249	97	83	1299 -	372
5439 -	10	262	2557 -	578
531	103	1452 -	91	52
6590 -	258	50	365	145
81	284	131	891 -	375
1166 -	213	238	137	76
17	118	673 -	19	41
160	547			
$\bar{x}_1 \pm \Sigma t = 695,95 \pm 464,23$				
Despues de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \Sigma t = 195,97 \pm 62,06$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº. 44.- Valores individuales correspondientes al total de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en el "resto del piso"

5568 -	211	981	488	173
66	1561 -	810	1665 -	197
6192 -	248	1033	240	465
20	485	435	318	6870 -
81	830	729	2134 -	950
2043 -	1319 -	276	704	440
200	0	223	163	966
392	155			
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 1100,86 \pm 562,15$				
Despues de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \xi t = 438,54 \pm 121,24$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO N°. 45 .- Valores individuales correspondientes al total de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en el suelo del dormitorio.

8156	1911	1012	1653	1648
715	3011	11751 -	1939	437
1474	7523	786	3541	5254
64	2701	354	2062	4200
400	771	5568	612	6149
1763	2557	382	5740	484
6226	1530	13350 -	8738	2052
3167	3913	6137	9045	1890
7183	3102	6837	6192	5043
579				
$\bar{x}_1 \pm \Sigma t = 4660,57 \pm 1200,14$				
Despues de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \Sigma t = 3284,11 \pm 802,38$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO N° 46 .- Valores individuales correspondientes al total de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en el "colchón".

5568	2062	437	1890	1763
382	612	11751 -	5043	3167
13350 -	5740	354	8156	3913
6137	8738	4200	715	3102
6837	9045	484	1474	1012
1653	6192	2052	400	786
3541				
$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 3888,90 \pm 1293,17$				
Despues de eliminar resultados aberrantes $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 3291,55 \pm 1044,67$				

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet

CUADRO Nº 47 .- Valores individuales correspondientes al total de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras de polvo recogidas en "colchones de espuma".

64	3011	1530
6226	7523	1939
7183	2701	5254
579	771	6149
1911	2557	
$\bar{x}_1 \pm \varepsilon_t = 3385,57 \pm 1480,62$		

(No se ha eliminado ningún resultado aberrante)

CUADRO Nº 48 .- Valores individuales correspondientes al total de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras de polvo recogidas en "colchones de lana".

e	l	F	t	N
$\bar{x}_e = 3291,55$	$\bar{x}_l = 3385,57$	1,15	0,1074	41
$\sigma_e = 2746,39$	$\sigma_l = 2564,34$			
$n_e = 29$	$n_l = 14$			
$s_e^2 = 7542658,03$	$s_l^2 = 6575839,64$			
$F' \text{ (para un error del } 2,5\%) = 2,96$				
$F < F' \rightarrow \text{las dos varianzas } \underline{\text{no difieren significativamente.}}$				
$t' \text{ (para } \alpha = 0,05) = 2,0196$				
$t < t' \rightarrow \text{las dos medias } \underline{\text{no difieren significativamente.}}$				

CUADRO N° 49 .-- Analisis estadístico de los resultados de los cuadros n° 47 y 48

	Colchón		Suelo habitación		Resto piso	
	A	B	A	B	A	B
SARCOPTIFORMES						
ACARIDIAE	100	91,18	97,30	85,74	100	88,54
Pyroglyphidae	100	80,16	97,30	62,82	100	76,80
Tyroglyphidae	30,43	0,56	59,46	1,85	56,76	1,25
Glycyphagidae	47,83	10,46	59,46	21,07	54,05	10,49
ORIBATEI	6,52	0,27	24,32	0,98	24,32	0,72
TROMBIDIFORMES						
TARSONEMINI	34,78	2,59	18,92	1,22	13,51	0,58
PROSTIGMATA	71,74	5,54	81,08	10,25	70,27	7,66
PARASITIFORMES						
MESOSTIGMATA	10,87	0,18	35,14	1,02	35,14	2,06
Sin identificar	8,70	0,24	18,92	0,78	18,92	0,44

A= Porcentaje de muestras positivas

B= Porcentaje de representantes del grupo con relación al número total de ácaros.

CUADRO N°. 50.- Composición cualitativa del polvo procedente de distintos micro-hábitats.

3.2.4. METODOS DE LIMPIEZA

La limpieza cotidiana de las viviendas donde se recogieron 135 de las 182 muestras de polvo estudiadas, se realizaba por los métodos tradicionales de barrido y fregado. Las 47 muestras restantes fueron recogidas en domicilios donde, bien fuera por las características del suelo (moqueta o parquet), o por costumbre del ama de casa, la limpieza cotidiana del suelo se realizaba con aspirador.

Cuadros n^{os}. 51 y 52 y n^{os}. 54 y 55.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos muestra que la media del número de ácaros presentes en el polvo doméstico de aquellos domicilios donde normalmente se hace uso del aspirador, es significativamente menor ($\alpha < 0,01$) que la media obtenida para aquellas otras viviendas donde la limpieza doméstica se realiza por los métodos tradicionales. (Cuadros n^{os} 53 y 56).

41	289	148	224	188	779 -
54	43	44	228	405	100
366	140	610 -	44	1198 -	306
292	172	572 -	84	336	2000 -
387	168	632 -	221	132	75
684 -	81	784 -	76	72	231
154	72	218	64	836 -	270
612 -	850 -	218	28	419	990 -
5759 -	3133 -	267	136	255	1641 -
764 -	470	437	248	230	3480 -
56	277	200	185	99	91
18	105	1300 -	192	664	500
35	7830 -	939 -	226	130	936 -
720 -	11	1973 -	26	1381 -	188
71	6726 -	1100 -	92	25	76
513	88	741 -	260	176	1376 -
552	983 -	243	188	235	829 -
85	319	182	164	38	577 -
17	25892 -	259	35	176	308
104	16607 -	192	62	381	433
91	764 -	161	24	610 -	
369	47	246	102	320	
238	232	176	72	296	

$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 855,98 \pm 475,30$					
--	--	--	--	--	--

Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 186,5 \pm 25,6$					
---	--	--	--	--	--

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº 51.- Valores individuales del número total de ácaros presentes en cada una de las muestras recogidas en aquellas casas donde la limpieza cotidiana se realizaba por los métodos tradicionales.

17	8	136	56
16	19	144	116
12	11	175	189
34	22	256	15
14	16	316	16
38	178	280	107
111	160	549 -	340
2561 -	328	1120 -	229
145	299	196	84
299	196	146	122
5	267	104	83
11	183	44	
$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 207,09 \pm 116,60$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 125,97 \pm 31,92$			

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO N° 52.- Valores individuales correspondientes al número total de ácaros presentes en las muestras recogidas en viviendas cuya limpieza cotidiana se realizaba con aspirador.

1	2	F	t	N
$\bar{x}_1 = 126,0$	$\bar{x}_2 = 186,5$			
$\sigma_1 = 105,0$	$\sigma_2 = 128,4$			
$n_1 = 43$	$n_2 = 99$	1,50	2,72	140
$\sigma_1^2 = 11.025$	$\sigma_2^2 = 16.512$			
F_s para un error del 2,5% = 1,72 $F > F_s \rightarrow$ las dos varianzas <u>no difieren significativamente</u>				
t' (para $\alpha = 0,01$) = 2,61 $t < t' \rightarrow$ las dos medias <u>difieren significativamente</u>				

CUADRO Nº 53.- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros nºs 51 y 52.

- 1.- Limpieza con aspirador
- 2.- Limpieza tradicional

34	27	252	139	40	262
46	62	309	28	709 -	1452 -
363	80	392	20	309	50
275	72	81	8	178	131
347	66	85	52	128	238
556 -	58	196	102	95	673 -
75	668 -	299	152	531 -	1299 -
112	3050 -	100	181	81	2557 -
174	467	791 -	150	1166 -	91
376	249	521 -	20	17	365
9	59	1377 -	80	160	891 -
6	5536 -	855 -	236	97	137
5	11	648 -	164	10	19
46	6536 -	200	164	103	372
49	48	76	25	258	578 -
124	278	120	54	284	52
296	202	122	36	824 -	145
2	840 -	39	167	460	375
11	1118 -	13	243	32	76
42	376	42	20	213	41
361	425	136	61	118	
212	148	180	207	547 -	
246	120	215	63	83	

$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 370,84 \pm 139,59$					
--	--	--	--	--	--

Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 145,60 \pm 22,40$					
---	--	--	--	--	--

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº. 54.- Valores individuales del número de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en aquellas casas donde la limpieza cotidiana se realizaba por los métodos tradicionales.

13	11	153	36
14	5	144	104
12	14	165	173
136	9	242	0
29	16	292	16
10	15	270	38
38	136	531 -	36
107	104	1056 -	177
2080 -	189	188	33
145	175	139	92
231	144	104	80
3	255	20	
$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 169,79 \pm 97,81$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 100,10 \pm 26,00$			

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº 55.- Valores individuales del número de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en aquellas casas donde la limpieza cotidiana se realizaba con aspirador.

1	2	F	t	N	
$\bar{x}_1 = 100,1$	$\bar{x}_2 = 145,6$				
$\sigma_1 = 85,3$	$\sigma_2 = 120,0$				
$n_1 = 44$	$n_2 = 112$	1,98	2,77	145	
$\sigma_1^2 = 7276,61$	$\sigma_2^2 = 14400$				
F_s para un error del 2,5% = 1,72 $F < F_s \longrightarrow$ las dos varianzas (σ_1^2 y σ_2^2) <u>difieren significativamente.</u>					
$t'(\text{para } \alpha = 0,01) = 2,61$ $t < t' \longrightarrow$ las dos medias <u>difieren significativamente</u>					

- (1) Limpieza con aspirador
(2) Limpieza tradicional

CUADRO Nº 56.- Análisis estadístico de los resultados
de los Cuadros nºs 54 y 55.

3.3. INFLUENCIA DEL FACTOR CUANTITATIVO DE ESTA ACARO- FAUNA EN LA PRODUCCION DE ATOPIAS RESPIRATORIAS.

Hemos creído también conveniente estudiar la posible influencia de la densidad acarina en la aparición de estados alérgicos respiratorios en los habitantes de las casas invadidas por estos ácaros. Con este fin hemos procedido a la comparación de la fauna acarina recogida en domicilios habitados por niños en los que se había demostrado una positividad al test cutáneo del polvo doméstico, y la presente en las muestras obtenidas en domicilios en los que sus habitantes no manifestaban afecciones alérgicas de ningún tipo.

37 muestras de polvo, del total de las 182 estudiadas, procedían de viviendas en las que habitaba algún niño con positividad a las mencionadas pruebas alérgicas.

La toma de estas 37 muestras se realizó siempre en forma fraccionada (capítulo 3.2.3.), debiéndose señalar que únicamente en estas muestras se recogió polvo de los colchones. Tan solo en una parte de estas 37 muestras se había recogido una muestra previa y general del polvo del piso. Por este motivo, en los casos en los que no se recogió esta muestra previa completa, la fracción denominada "resto del piso" es la que ha servido para establecer este estudio comparativo, por considerar que será la más representativa, en su composición, con relación a las muestras totales recogidas habitualmente. (Ver Cuadros nºs 57 al 62)

17	35	88	610 -	64	44
16	720 -	983 -	572 -	28	56
12	71	178	632 -	135	116
41	513 -	160	784 -	248	189
54	8	328	218	185	15
366	19	299	218	192	16
292	552 -	196	267	226	107
387	11	267	436	26	340
685 -	22	183	200	92	229
34	85	136	1300 -	260	84
14	17	319	939 -	188	122
38	104	144	1973 -	164	83
111	43	175	1100 -	35	369
2561 -	140	256	741 -	62	238
145	172	316	243	24	289
299	168	280	182	102	232
154	81	549 -	259	336	148
612 -	72	1120 -	192	132	44
5759 -	850 -	196	161	72	176
764 -	3133 -	146	246	836 -	224
5	16	104	44	419	228
56	470	25892 -	84	255	72
18	105	16607 -	221	230	188
11	11	764 -	76	99	405
					1198 -
$\bar{x}_1 \pm \xi t = 598,71 \pm 419,97$					
Despues de eliminar resultados aberrantes:					
$\bar{x}_2 \pm \xi t = 150,75 \pm 19,73$					

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº 57 .- Valores individuales del número total de ácaros presentes en cada una de las muestras recogidas en domicilios cuyos habitantes no manifestaban afecciones alérgicas de ningún tipo.

277	320	1641 -	308
7830 -	296	3480 -	433
6726 -	779	91	91
664	100	500	47
130	306	936	235
1381 -	2000 -	188	38
25	75	76	176
176	231	1376 -	
381	270	829	
610	990	577	
$\bar{x}_1 \pm \ell t = 934,84 \pm 562,57$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \ell t = 338,50 \pm 103,70$			

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº. 58.- Valores individuales del número total de ácaros presentes en cada una de las muestras recogidas en domicilios habitados por niños con positividad cutánea al extracto de polvo doméstico.

N	A	F	t	N
$\bar{x}_N = 150,75$	$\bar{x}_A = 338,50$			
$\sigma_N = 109,13$	$\sigma_A = 227,59$	4,35	5,86	148
$n_N = 120$	$n_A = 30$			
$s_N^2 = 11.909$	$s_A^2 = 51.797$			
F_s para un error del 2,5% = 1,55 $F > F_s \rightarrow$ las dos varianzas <u>difieren significativamente</u>				
t' (para $\alpha = 0,001$) = 3,36 $t > t' \rightarrow$ las dos medias <u>difieren significativamente</u>				

CUADRO N° 59.- Análisis estadístico de los resultados de los cuadros n°s 57 y 58.

13	5	48	425	8	36
14	46	278	352	52	104
12	49	136	309	102	173
34	124	104	392	152	0
46	5	289	81	181	16
363	14	175	85	150	38
275	296	144	196	20	36
347	9	255	299	80	177
556 -	16	153	100	236	33
29	2	136	791 -	164	92
10	11	202	521 -	164	80
38	42	144	1377 -	25	361
107	27	165	855 -	54	212
2080 -	62	242	648 -	20	246
145	80	292	200	61	148
231	72	270	76	207	120
75	66	531 -	120	63	32
112	58	1056 -	122	40	136
174	668 -	188	39	709 -	180
376	3050 -	138	13	309	215
3	15	104	42	178	36
9	467 -	840 -	139	128	167
6	59	1118 -	28	95	243
11	11	376	20	20	824 -
					460 -
$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 199,01 \pm 45,99$					
Despues de eliminar resultados aberrantes:					
$\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 117,36 \pm 17,55$					

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº 60.- Valores individuales del número de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en domicilias cuyos habitantes no manifestaban afec-ciones alérgicas de ningún tipo.

249	103	131	372
5568 -	258	238	578
6536 -	284	673 -	52
531	213	1299 -	145
81	118	2557 -	375
1166 -	547	91	76
17	83	365	41
160	262	891 -	
97	1452 -	137	
10	50	19	
$\bar{x}_1 \pm \epsilon t = 697,97 \pm 466,56$			
Despues de eliminar resultados aberrantes: $\bar{x}_2 \pm \epsilon t = 195,96 \pm 62,10$			

(-) Dato eliminado despues de aplicar el test de Chauvenet.

CUADRO Nº 61.- Valores individuales del número de ácaros Pyroglyphidae presentes en cada una de las muestras recogidas en domicilios habitados por niños con positividad cutánea al extracto de polvo doméstico.

N	A	F	t	N
$\bar{x}_N = 117,36$	$\bar{x}_A = 195,96$			
$\sigma_N = 163,15$	$\sigma_A = 163,15$			
$n_N = 129$	$n_A = 29$	2,62	3,34	156
$s_N^2 = 10.146,5$	$s_A^2 = 26.617,9$			
F_s para un error del 2,5% = 1,57 $F > F_s \rightarrow$ las dos varianzas <u>difieren significativamente</u>				
t' (para $\alpha = 0,001$) = 2,85 $t > t' \rightarrow$ las dos medias <u>difieren significativamente</u>				

CUADRO N° 62.- Análisis estadístico de los resultados de los Cuadros n°s 60 y 61.

3.4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Los únicos estudios realizados en España sobre la composición y frecuencia de la fauna acarina del polvo doméstico (97, 98), señalan que, la frecuencia de infestación por ácaros de las muestras de polvo, tomadas en la provincia de Cadiz, es de un 47%.

Los datos dados por COMAMALA (23), correspondientes a muestras de polvo de Barcelona, no dan cifras concretas sobre número de muestras estudiadas, porcentaje de infestación ni representatividad de las diversas especies de Acarina, limitándose únicamente a citar algunas especies encontradas.

En el presente estudio, el porcentaje de infestación por ácaros, en un total de 182 muestras de polvo analizadas, ha sido del 100%. Estos datos concuerdan con los de OSHIMAZ(87), MIYAMOTO y cols. (78), SPIEKSMAN y SPIEKSMAN-BOEZEMAN (122) y ARAUJO FONTAINE y cols. (6), los cuales señalan haber utilizado muestras considerables de polvo (muestras de 1 a 5 g), y métodos efectivos de concentración y aislamiento de los ácaros presentes en las mismas. Es por ello por lo que nosotros consideramos que el hallazgo de mayores o menores porcentajes de muestras positivas a los ácaros será debida, no tanto a la presencia real de estos pequeños artrópodos en el habitat doméstico, como al estudio de muestras de polvo suficientemente representativas de

la biocenosis acarina de este hábitat, así como al empleo de métodos de concentración y aislamiento efectivos.

La presencia constante de los ácaros Pyroglyphidae en las muestras estudiadas (99,45% de muestras positivas), y dentro de ellos la de los pertenecientes al género Dermatophagoides, confirma la teoría de SPIEKSMAN (119), que considera a estos ácaros como los genuinos constituyentes de la fauna pulvídica doméstica. La presencia de otros grupos de Acarina en esta biocenosis (algunos de los cuales aparecen con densidad y frecuencia elevadas) será siempre debida a causas más o menos accidentales u ocasionales, bien como resultante de contaminaciones exteriores, bien como consecuencia de peculiaridades propias de determinados ambientes domésticos.

La composición cuali y cuantitativa de esta fauna estará supeditada a una serie de factores, condicionados a circunstancias propias de cada uno de los domicilios y de los hábitos de las personas que los habitan. De entre la infinidad de factores que puedan influir en la composición de la fauna acarina de una determinada vivienda, y dentro de ella en la de una determinada muestra de polvo, hemos analizado aquellos que nos han parecido más dignificativos para el conocimiento de la evolución de esta acarofauna en el ambiente doméstico, y para establecer su relación con la etiología del asma atópica infantil.

VOORHORST y cols. (139), en un estudio realizado en Leiden (Holanda), señalan que el polvo procedente de las viviendas de familias humildes, construidas sobre terrenos húmedos y pantanosos, y por lo tanto con una elevada H.R., contiene mayor número de ácaros que el procedente de aquellas otras que gozan de mejores condiciones socioeconómicas y que se caracterizan por una baja H.R.. Dado que es difícil e inexacto precisar la H.R. de una vivienda por el lugar donde está construida y la calidad de la construcción, sin tener en cuenta los hábitos de sus moradores, tipo de calefacción utilizada en la casa, altura del piso, antigüedad de la construcción, etc., en este estudio se ha intentado establecer la influencia cuantitativa de la H.R. ambiental en el número de ácaros presentes en el polvo, midiendo ésta mediante un higrómetro de precisión al realizar la toma de cada una de las muestras, de acuerdo con la H.R. hallada en la casa en el momento de la toma de cada una de las muestras. El análisis estadístico de los resultados obtenidos, después de agrupar las distintas muestras de acuerdo con la H.R. hallada en la casa en el momento de la toma, indica que el número de ácaros presentes en el polvo varía significativamente ($\alpha = 0,001$) al variar la H.R., y tanto en lo que respecta al número total de especímenes aislados como en lo que se refiere al número de ejemplares presentes pertenecientes a la familia Pyroglyphidae.

Aunque al considerar la H.R. ambiental como un carácter meramente cualitativo halláramos este elevado grado de variación, al considerar dicho factor como estrictamente cuantitativo, no hemos hallado correlación significativa que manifestara que los diversos puntos obtenidos se hallaran sobre una recta, una curva parabólica o una curva sigmoidal.

Como se ha señalado ya en otros capítulos de este trabajo, la mayoría de especies de ácaros precisan, para poder subsistir, de la presencia de un elevado grado de humedad. Cuando la H.R. del substrato donde viven descende a valores del 60%, su supervivencia se ve gravemente afectada. Sin embargo, aún cuando la H.R. ambiental de una vivienda alcanza valores muy bajos, es posible que los ácaros encuentren determinados microhábitats con condiciones ecológicas idóneas para su desarrollo. Si adicionamos a este dato el que, aun cuando la medición de la H.R. de la vivienda se realizó con las puertas y ventanas que comunicaban con el exterior cerradas, los valores medidos estarán notablemente condicionados por el grado de humedad atmosférica existente el día en que se tomó la muestra. Es lógico, por lo tanto, que la variación cuantitativa del número de ácaros presentes en el polvo con relación al incremento de la H.R. ambiental no siga una regla fija, expresable mediante una fórmula matemática.

La variación estacional del número de ácaros presentes en el polvo ha sido ampliamente discutida por diversos investigadores. Mientras SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122) y SPIEKSMA y cols. (124) observan un máximo incremento de la densidad acarina a finales de verano y principios de otoño y un mínimo a finales de invierno y principios de primavera, SHAMIYEH y cols. (106) señalan que las cifras más altas del número de ácaros, presentes en el polvo de diversas casas en el estado de Tennessee (U.S.A.), correspondiérn siempre a las muestras recogidas en julio y septiembre. GRIDELET y LEBRUN (51) indican que las muestras recogidas en Bélgica durante el periodo comprendido entre junio y diciembre de 1971, mostraron dos máximos, correspondientes a los meses de junio y principios de septiembre. Según los autores, la discordancia de sus resultados con los obtenidos por SPIEKSMA y SPIEKSMA-BOEZEMAN (122), podría explicarse si en vez de considerar una variación estacional con un máximo estival u otoñal, consideráramos una variación basada en oscilaciones periódicas.

Como consecuencia del estudio realizado por nosotros en Barcelona, y después de observar la elevada correlación existente entre la H.R. atmosférica y la densidad de la población acarina pulvídica ($\alpha < 0,001$), consideramos que no puede hablarse estrictamente de una variación estacional ni de una oscilación periódica del número de especímenes presentes en la acarofauna doméstica. A nuestro entender, las variaciones que sufre esta

acarofauna están condicionadas a las variaciones que sufre la H.R. atmosférica. No es, por lo tanto, de extrañar que aun cuando haya una coincidencia general en el incremento de la densidad acarina durante la estación otoñal, por ser normalmente esta la estación húmeda del año, los datos obtenidos en unos u otros años y en unas u otras localizaciones geográficas no coincidan exactamente, ya que estarán supeditados a las variaciones climáticas.

Aun cuando al realizar el estudio de la posible influencia de la H.R. ambiental de una vivienda en la densidad acarina del polvo de la misma no halláramos correlación significativa, creemos que este dato no contradice al que es objeto de esta discusión. La H.R. de una vivienda, medida en el momento de la toma de la muestra de polvo, puede estar condicionada por una serie de factores, totalmente accidentales o temporales, que hacen que no sea representativa de la H.R. media habitual.

El examen cuantitativo de las muestras procedentes de colchones, suelo de la habitación y resto del piso, ha dado resultados muy diversos. El mayor número de especímenes hallados ha sido siempre en el polvo procedente de los colchones, valores que en la mayoría de los casos superan el millar de ácaros por muestra de 5 g, con un valor medio de 4406 ácaros/5 g, una vez eliminados los resultados aberrantes. Las cifras halladas para las muestras procedentes del suelo de la habitación son sensiblemente menores ($\bar{x} = 840$), pero representan más del doble de las correspondientes a las muestras recogidas en el resto del piso ($\bar{x} = 338$).

MAUNSELL y cols. (74), señalan que el polvo recogido en la superficie de los colchones contiene un número de ácaros 100 veces mayor que el de la sala de estar. Aun cuando estos datos rebasan notablemente las diferencias cuantitativas entre uno y otro microhabitat halladas en nuestras investigaciones, es posible que esta discordancia sea debida unicamente a la forma de tomar las muestras. Como se ha indicado ya (Capítulo 2.1.2.2.), la toma de muestras se ha realizado por medio de un aspirador en todos los casos, en tanto que MAUNSELL y cols. (74) prefieren, unicamente en el caso de los colchones, recoger la muestra mediante un cepillado de su superficie. Según comunicación personal de A.M. Cunningham, este método facilita la observación y recuento de los ácaros, puesto que con él no se recoge la fracción fina del polvo (fracción que mediante nuestro método de concentración, queda eliminada por el tamiz de 0,075 mm de luz de malla), que constituye la parte fundamental de la masa de polvo recogida cuando esta se efectúa mediante un aspirador. No es de extrañar, por lo tanto, que la diferencia encontrada por los autores citados entre el contenido de ácaros del polvo de la sala de estar y el de los colchones sea mucho mayor que la nuestra, puesto que en realidad, mediante su método de recogida, se ha realizado ya una concentración de los ácaros al tomar la muestra de polvo en los colchones.

La mayoría de los colchones usados por los pacientes eran de espuma o fibras sintéticas. Este tipo de col-

chones son recomendados por la mayor parte de los alergólogos, ya que no presentan propiedades alergénicas. Sin embargo, STENIUS y CUNNINGTON (126), señalan que este tipo de colchones no son inmunes a infestaciones acarinas, pudiendo vivir y desarrollarse los ácaros perfectamente en su superficie, ya que el material del que esté fabricado el colchón no constituirá nunca su alimento, que como hemos señalado repetidamente lo constituyen las escamas dérmicas humanas. De acuerdo con ello, el análisis estadístico de los resultados obtenidos en nuestras investigaciones ha mostrado que no existe diferencia significativa entre el número de ácaros presentes en la superficie de aquellos colchones fabricados con materiales sintéticos y la de aquellos que estaban fabricados con lana.

Entre las normas profilácticas que establecen los alergólogos, en aquellos casos en los que sus pacientes muestran una marcada hipersensibilidad al polvo doméstico, destaca la intensificación de la higiene doméstica, sobre todo la eliminación del polvo. Es una costumbre bastante frecuente, en aquellas madres que tienen algún hijo con alergia al polvo, el fregar diariamente el suelo de sus casas. Parece ser también opinión de muchos que los suelos de moqueta son contraindicados en aquellas casas en las que hay personas hipersensibles al polvo doméstico, ya que no permiten el lavado frecuente y son, por el contrario, idóneos para la acumulación de polvo.

Según Van BRONSWIJK y SINHA (18), los Pyroglyphidae están repartidos en cuatro lugares distintos de las casas: suelos, colchones, muebles y ropas. El número de ácaros de los suelos puede reducirse en gran medida procurando reducir todo lo posible la H.R. de la vivienda. Debido al fototropismo negativo de los Dermatophagoides, estos ácaros tienden a esconderse en las grietas, ranuras y rincones, de donde podrán eliminarse prestando especial atención al pasar el aspirador. El lavado de los suelos con agua y jabón no reduce necesariamente el número de ácaros sino que, la mayoría de las veces, ayuda a crear un hábitat húmedo idóneo para su desarrollo. Señalan los autores que Dermatophagoides tarda más de dos días en morir ahogado en una solución de agua y jabón.

CUNNINGTON y GREGORY (32), por otra parte, afirman que el número de ácaros que flota por el aire al sacudir la cama es 8 veces inferior si previamente se ha pasado el aspirador por el colchón.

Creemos que estos datos explican los resultados obtenidos en el presente estudio. Según nuestra experiencia, las muestras procedentes de casas donde se usa normalmente el aspirador contienen un número de ácaros sensiblemente menor ($\bar{x} = 126$) que aquellas otras procedente de domicilios donde la limpieza diaria se realizaba por los métodos tradicionales ($\bar{x} = 187$).

VOORHORST y cols. (139), indican no haber encontrado diferencias significativas entre el número de ácaros presentes en las muestras procedentes de casas habitadas o no por personas con síntomas de atopia respiratoria al polvo doméstico. El análisis estadístico de nuestros resultados ha mostrado que los dos lotes de muestras estudiadas: lote A - muestras procedentes de viviendas habitadas por pacientes alérgicos- y lote N - muestras procedentes de viviendas no habitadas por pacientes alérgicos-, son totalmente distintos.

Es difícil encontrar la causa lógica de esta discordancia de datos. La misma heterogeneidad observada en las condiciones ecológicas y sociales de un lote de viviendas se mantuvo en el otro. A la vista de todo ello, consideramos que la presencia de un número considerable de ácaros en el polvo de una casa es factor importante, aunque no decisivo, en la aparición de manifestaciones atópicas en los individuos que la habitan.

3.5. CONCLUSIONES

Después de un detenido examen de los resultados obtenidos en nuestro estudio sobre la composición, densidad y frecuencia de la fauna acarina del polvo doméstico, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. La presencia de ácaros es constante en el polvo doméstico de Barcelona y poblaciones circundantes. La densidad de esta acarofauna pulvícola oscila entre 5 y 513 ácaros por 5 g de polvo, con una densidad media de 165 ± 20 ácaros por 5 g de polvo.
2. Los más genuinos representantes de la fauna acarina doméstica son las especies pertenecientes a la familia Pyroglyphidae, y dentro de ellas los ácaros pertenecientes al género Dermatophagoides.
3. La especie más representativa de la fauna acarina del polvo doméstico de Barcelona, tanto por la frecuencia de su hallazgo (96,15% de muestras positivas), como por el número de especímenes aislados (39,70% del total de ácaros recogidos) es Dermatophagoides pteronyssinus.
4. Dermatophagoides farinae se ha hallado presente en un 52,20% de las muestras y Euroglyphus maynei en un 41,21%, aunque siempre en escaso número, representando respectivamente el 4,28% y 2,04% del total de especímenes reco-

gidos en las 182 muestras analizadas. Otras especies de Pyroglyphidae halladas de forma esporádica han sido: D. microceras, D. passericola y Malayoglyphus carmelitus.

5. Diversas especies pertenecientes a otros grupos de Acarina se han encontrado en proporción y frecuencia variables. Así: Tyroglyphidae -60,44% de muestras positivas (Acarus siro, Tyrophagus spp.)-, Glycyphagidae -46,70% (Glycyphagus domesticus, G. destructor, G. privatus, Gohieria fusca, Chortoglyphus arcuatus, Carpoglyphus lactis)-, Rhyzoglyphidae - 1,65%-, Oribatei - 38,46%-, Tarsonemini (Tarsonemus spp. y Pediculoides ventricosus)†, Prostigmata - 69,23%- (Cheyletus spp.) y Mesostigmata -47,80%-.

6. El estudio estadístico de los datos obtenidos en nuestra prospección sobre la acarofauna pulvícula de nuestra ciudad, demuestra la existencia de una serie de factores que influyen en la supervivencia y desarrollo de esta fauna acarina y en la composición cuanti y cualitativa de la misma:

a) La humedad de la vivienda influye de forma manifiesta en la composición cuantitativa de la acarofauna doméstica, tanto en lo que se refiere al total de especímenes presentes como al número de representantes de la familia Pyroglyphidae. Sin embargo, la dificultad que presenta la medición correcta de la H.R. media de cada uno de los domicilios estudiados, impide el poder establecer el tipo de relación existente entre dichos factores (H.R. y número de ácaros).

b) La densidad acarina de la biocenosis pulvícula varía de forma notable a lo largo del año. La elevada correlación hallada entre el número de ácaros presentes en las muestras de polvo doméstico recogidas dentro de un mismo mes con la H.R. ambiental del mes anterior, demuestra que la variación estacional de la densidad acarina del polvo doméstico, es debida a la variación que experimenta la H.R. atmosférica.

c). El hábitat primario de D. pteronyssinus lo constituyen los colchones y ropas de cama, donde este ácaro encuentra condiciones climáticas y alimenticias óptimas para su desarrollo. Su presencia, así como la de otras especies de ácaros, es también constante en el resto de la casa, en la que son más abundantes en el suelo de los dormitorios que en el de las restantes habitaciones.

d) La naturaleza del material del que está fabricado el colchón no influye en la densidad de la acarofauna que alberga. El uso de colchones de materiales sintéticos, recomendados a los pacientes atópicos, no afecta por lo tanto a los componentes cuanti y cualitativos de la acarofauna que está en íntimo contacto con ellos.

e) El uso frecuente del aspirador para la limpieza doméstica reduce sensiblemente la densidad de la población acarina de la vivienda, ya que es el único método efectivo para la eliminación de estos pequeños

artrópodos de sus biotopos habituales (rincones, grietas, ranuras, sofás, alfombras, etc.).

f) Las muestras procedentes de aquellas viviendas en las que habita algún niño con hipersensibilidad manifiesta al polvo doméstico, contienen un número de ácaros superior al de aquellas otras cuyos habitantes no manifiestan síntomas atópicos. A pesar de ello, consideramos que este factor cuantitativo tiene sola una influencia parcial en la aparición de estas manifestaciones atópicas

PROPIEDADES ANTIGENICAS DE LOS ACAROS DEL POLVO DO-
=====

MESTICO. COMPARACION DE SUS EXTRACTOS ANTIGENICOS
=====

CON LOS EXTRACTOS DEL POLVO DOMESTICO. INVESTIGACIO-
=====

NES PERSONALES.
=====

4. PROPIEDADES ANTIGENICAS DE LOS ACAROS DEL POLVO DOMESTICO. COMPARACION DE SUS EXTRACTOS ANTIGENICOS CON LOS EXTRACTOS DE POLVO DOMESTICO, INVESTIGACIONES PERSONALES.

4.1. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE TESTS CUTANEOS DE PUNTURA EN NIÑOS ALERGICOS.

Los resultados obtenidos en la práctica de reacciones cutáneas a 61 niños con complicaciones asmáticas, y cuyo agente etiológico era presumiblemente el polvo doméstico, vienen expresados en el Cuadro nº 63.

En un comienzo utilizamos las pruebas cutáneas practicadas mediante la técnica de intradermoreacción. Los inconvenientes derivados de la utilización de dicha técnica, multiplicados cuando se trata de realizar sobre un mismo sujeto las pruebas correspondientes a distintos alergenicos, se discuten en el capítulo 2.4.1.1.

Por este motivo nos referimos exclusivamente a las experiencias realizadas con el "prick test". Los extractos utilizados han sido en parte preparados por nosotros mismos a partir de cultivos obtenidos en el laboratorio, con excepción de los correspondientes a los dos Dermato-

phagoides, ya que, dada la lentitud con que se desarrollan los cultivos de estos ácaros, transcurrió mucho tiempo antes de que pudieramos disponer de una cantidad de alérgeno suficiente para una práctica prolongada de estas reacciones con resultados reproducibles y comparables (Ver capítulo 2.3.1.)

Igualmente hemos usado un extracto de polvo doméstico comercial de la misma procedencia que la de los extractos puros de los Pyroglyphidae citados.

Los extractos alérgénicos utilizados para dichos ensayos clínicos, fueron los que a continuación se citan:

- Extracto de polvo doméstico (1/10) (Bencard)
- Extracto de D. pteronyssinus (1/100-1/200) (Bencard)
- Extracto de D. farinae (1/100) (Bencard)
- Extracto de A. siro (1/10) (*)
- Extracto de A. siro + Cheyletus spp. (1/10) (*)
- Extracto de T. putrescentiae (1/10) (*)

El análisis estadístico de los resultados obtenidos muestra que, si bien la naturaleza del extracto influye de forma altamente significativa ($\alpha < 0,001$) en la intensidad de la respuesta, este factor no actúa de forma aislada, sino que viene asociado a un factor personal intrínseco de cada individuo anali-

(*) Preparados a partir de nuestros cultivos, tal como se ha indicado en el Capítulo 2.3.

zado ($\alpha < 0,001$) (Cuadro nº 64). Este dato deberá tenerse en cuenta al interpretar los resultados obtenidos, puesto que una respuesta similar a varios extractos en un mismo individuo dependerá, no solo de la naturaleza de cada uno de los extractos, sino también de la disposición personal de dicho individuo a reaccionar de una determinada forma.

En las gráficas nºs 10 al 24 se indican las respuestas cutáneas obtenidas para los diferentes extractos de polvo y ácaros, las correlaciones halladas entre ellos y las ecuaciones de las rectas que determinan.

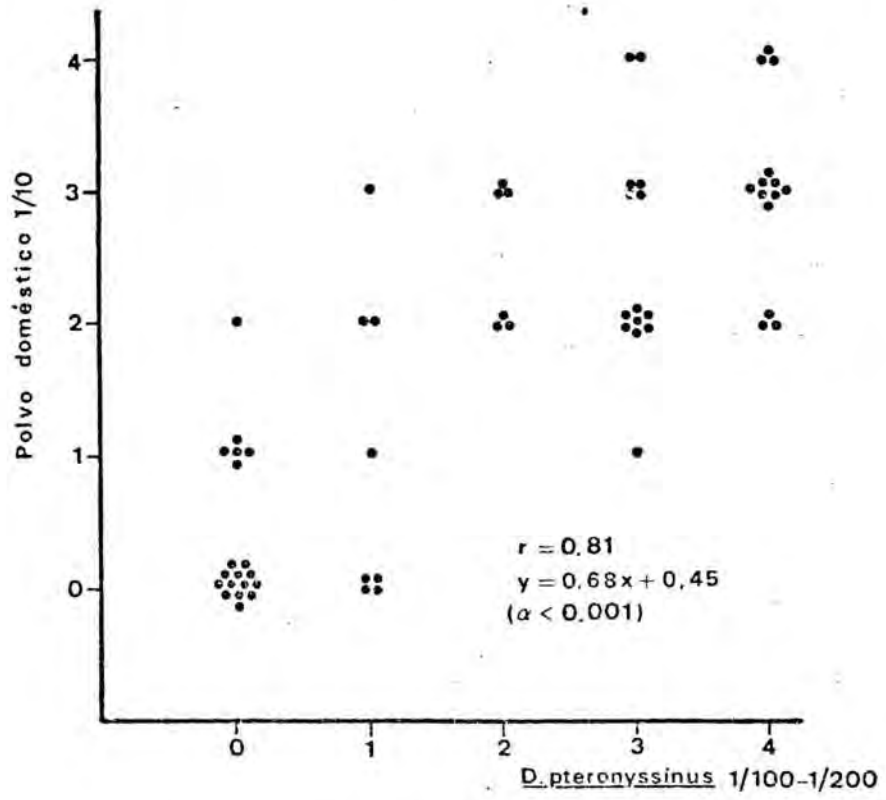
P	E	1	2	3	4	5	6	P	E	1	2	3	4	5	6
1	+++	++++	++++	++++	++	++		32	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	++	+++	+++	-	-		33	++	-	-	++++	+	+	+
3	+++	++++	+++	++	++++	++++		34	+++	++++	++++	-	-	-	-
4	+++	++++	+++	++++	-	-		35	+++	+	++	++++	+++	+++	+++
5	-	-	-	++	-	-		36	+++	++++	+	-	-	-	-
6	++++	++++	++++	++++	++++	++++		37	+++	++	+	+	+	+	+
7	++	+++	-	-	-	-		38	+	+	+	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-		39	-	+	+	-	-	-	-
9	++	++	++	+	-	-		40	++	+++	++	-	-	-	++
10	+	-	-	-	+	+		41	-	-	-	-	-	-	-
11	++	+	-	-	+	+		42	-	-	-	-	-	-	-
12	++	+++	++	-	-	-		43	-	-	-	-	-	-	-
13	++	++++	+++	+	-	+		44	-	-	-	-	-	-	-
14	+++	+++	+++	-	-	-		45	+	+++	+++	-	-	-	+
15	++	++	+++	+	+	+		46	-	-	-	-	+	+	+
16	++	+++	+++	-	-	-		47	+	-	-	-	-	-	-
17	+++	+++	++	-	-	-		48	-	-	-	-	-	-	-
18	++	+	++	-	-	-		49	-	+	+	-	-	-	-
19	+++	+++	++	-	-	-		50	-	+	+	+	-	-	-
20	+++	+++	++	-	+	++		51	+	-	-	-	-	-	-
21	+++	++++	+++	-	+	+		52	++	++	-	-	-	-	-
22	+++	++++	+++	-	-	+		53	++++	++++	++++	-	-	-	-
23	++	++++	++++	-	-	+		54	-	-	-	-	-	-	-
24	++	++++	++	-	+	-		55	-	-	-	-	-	-	-
25	++	+++	+++	+++	-	+++		56	+	-	+	-	-	-	-
26	+++	++++	++++	++++	++	+++		57	-	+	+	-	-	-	-
27	++++	++++	-	-	-	-		58	-	-	-	-	-	-	-
28	+++	++	++	+++	+	+++		59	-	-	-	-	-	-	-
29	++	+++	++	++	+	+++		60	-	-	-	-	-	-	-
30	++++	+++	-	-	+	+		61	+	-	+	-	+	-	-
31	++++	+++	++++	-	-	-									

1. Extracto de Polvo doméstico (Bencard) 1/10
2. Extracto de D. pteronyssinus (Bencard) 1/100-1/200
3. Extracto de D. farinae (Bencard) 1/100
4. Extracto de T. putrescentiae 1/10
5. Extracto de A. siro 1/10
6. Extracto de A. siro + Cheyletus spp. 1/10

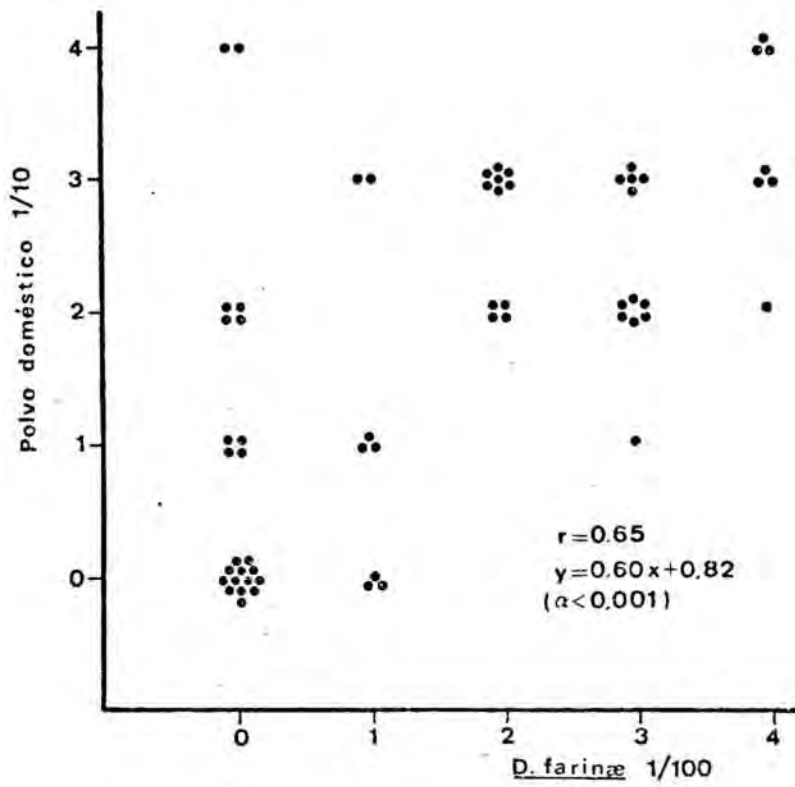
CUADRO nº 63.- Resultados de las pruebas cutáneas efectuadas a 61 niños.

Origen de la variación	Σ de los cuadrados de las desviaciones	N	Varianza	F
Personas	113,8	5	22,76	28,7
Extractos	351,3	60	5,85	7,4
Residual	237,5	300	0,79	
$F_{300}^5 (1\%) = 4,10$ $F_p > F_{300}^5$ el factor persona actua <u>significativamente</u> .				
$F_{300}^{60} (1\%) = 1,66$ $F_e > F_{300}^{60}$ el factor extracto actua <u>significativamente</u> .				

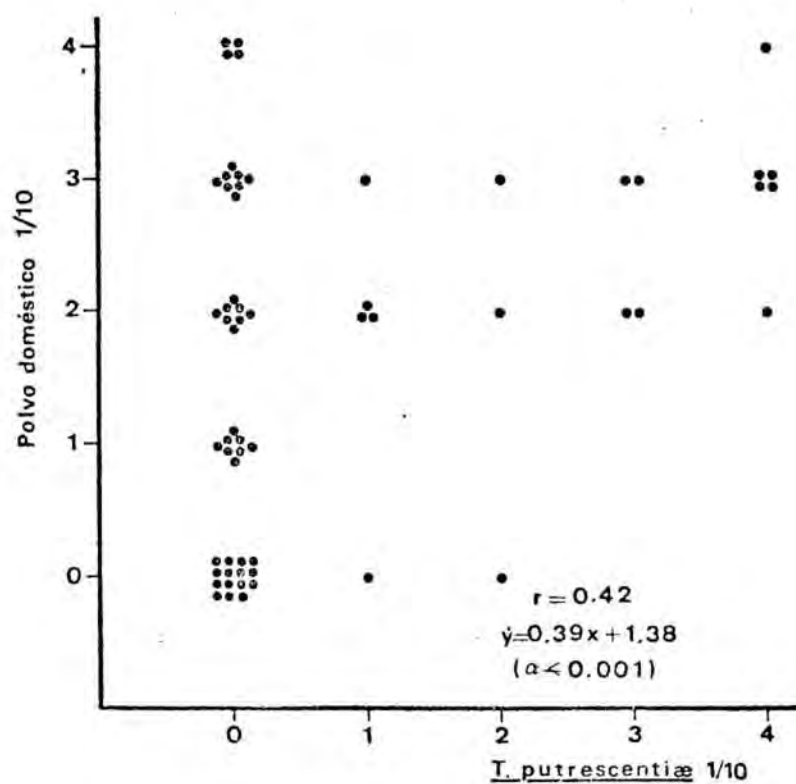
CUADRO Nº 64 .- Análisis de la varianza cuando el factor "extracto" y el factor "persona" actuan simultaneamente.



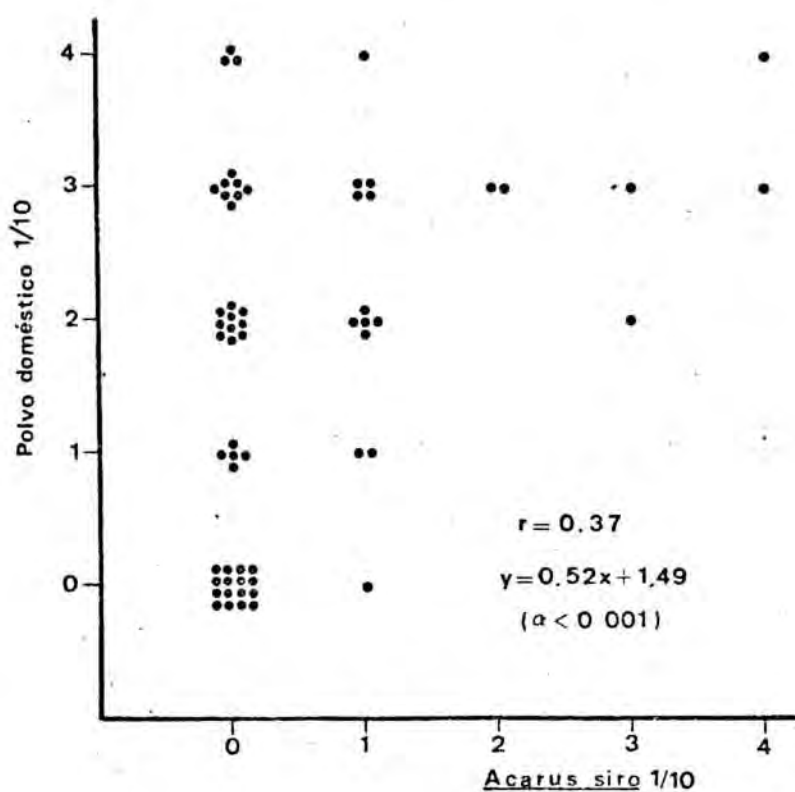
GRAFICA Nº 10



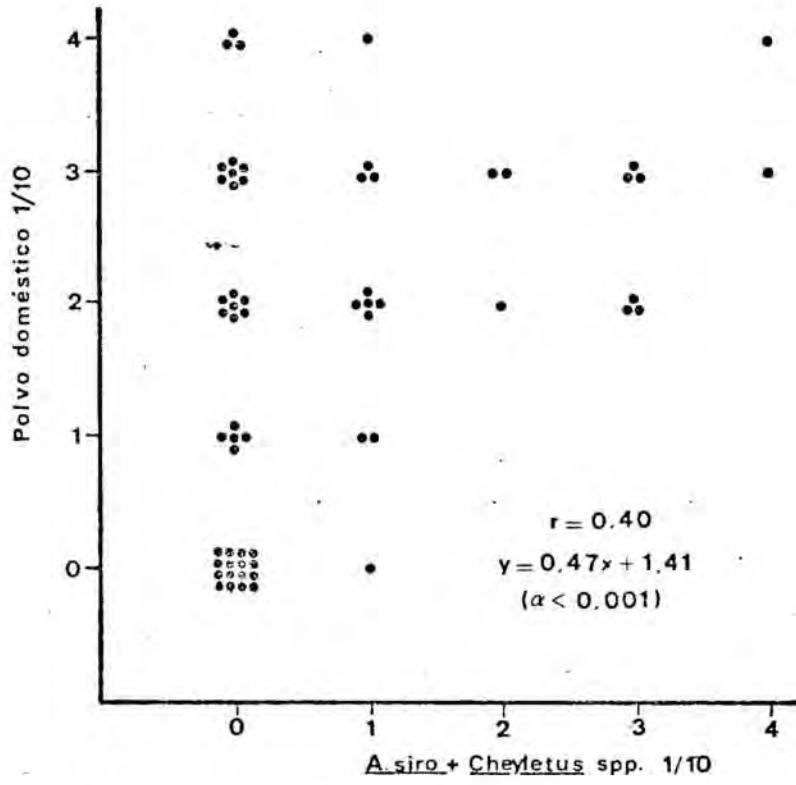
GRAFICA Nº 11



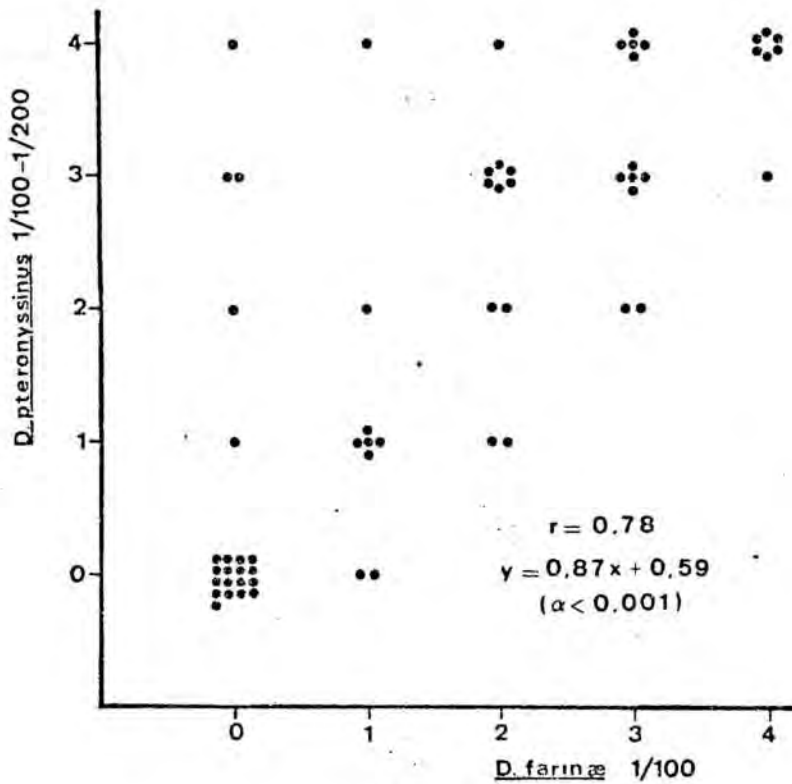
GRAFICA N° 12



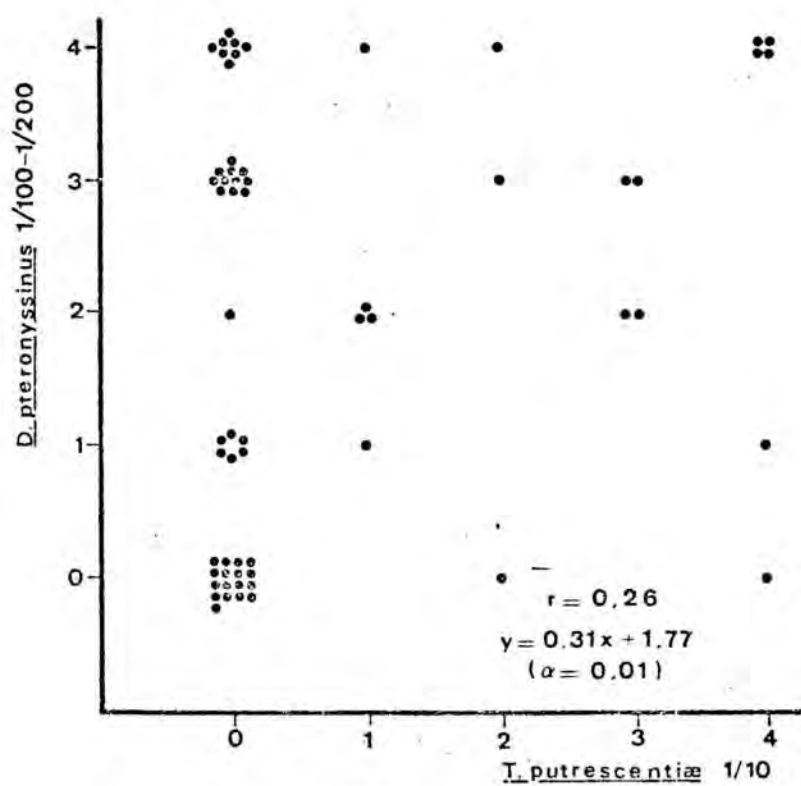
GRAFICA N° 13



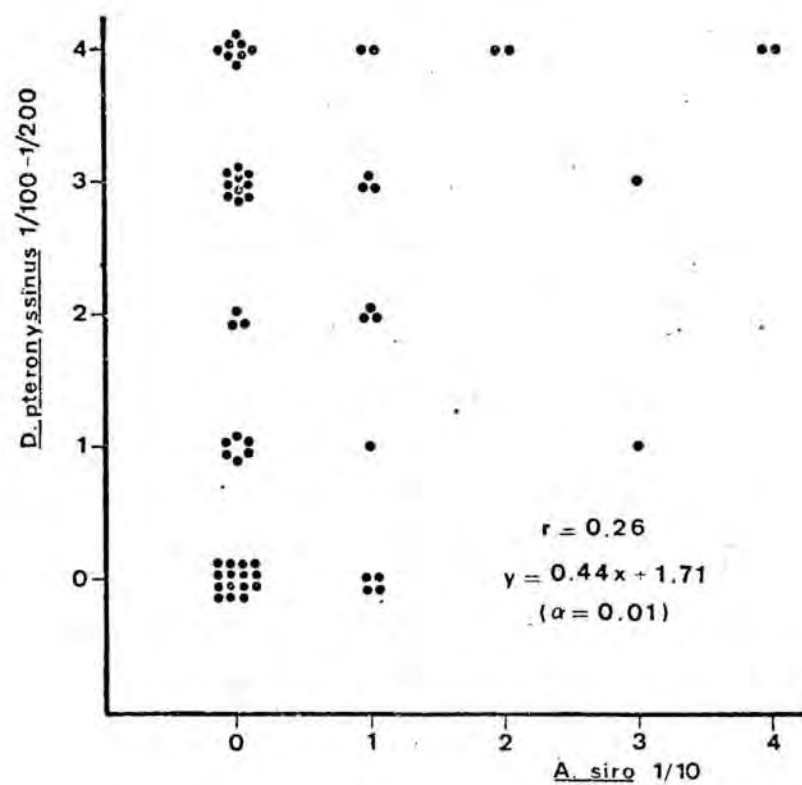
GRAFICA Nº14



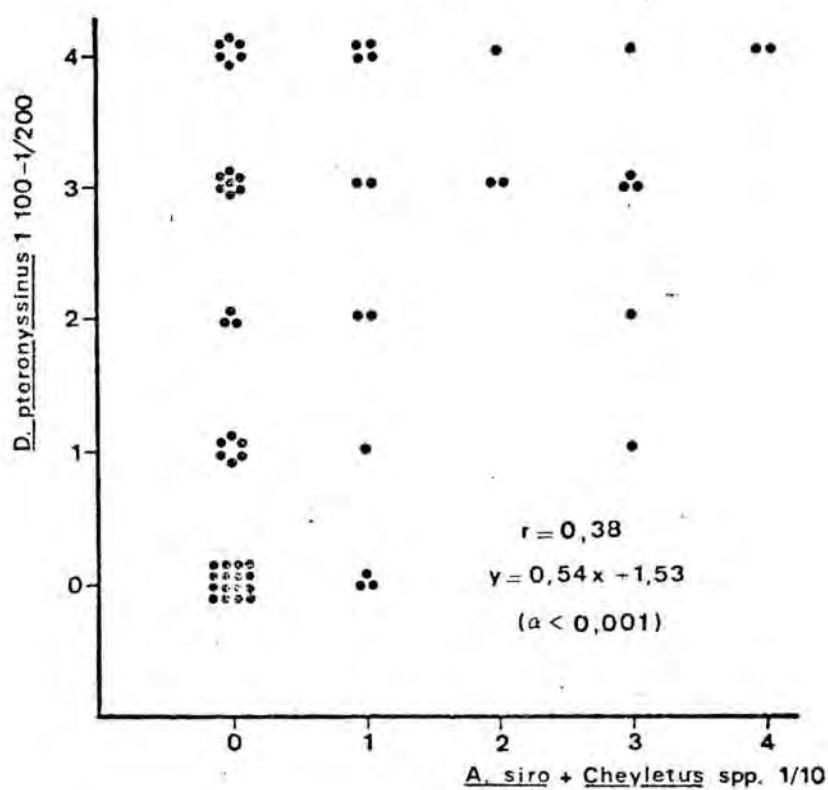
GRAFICA Nº15



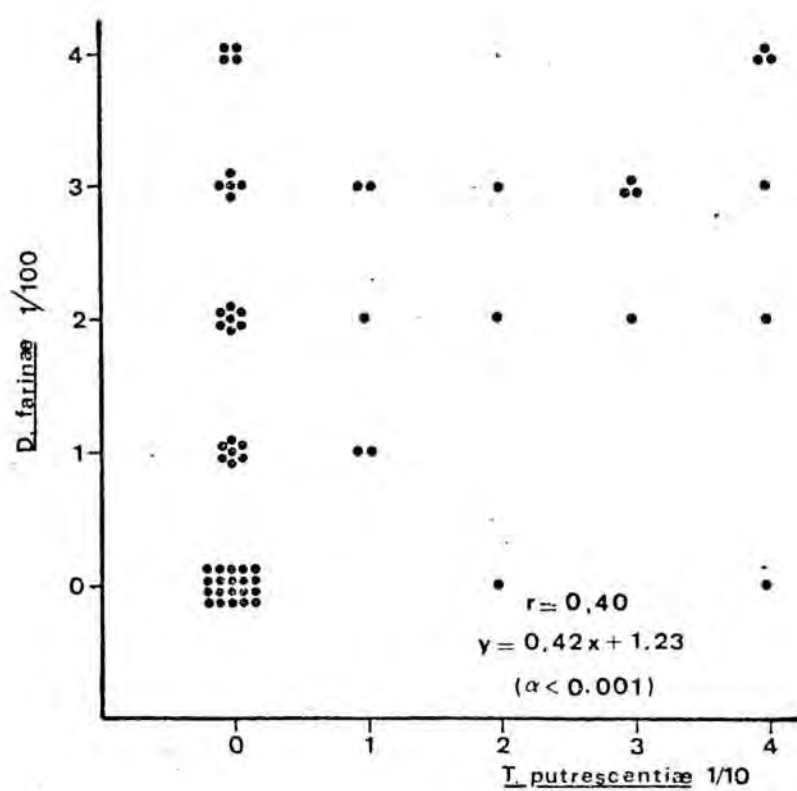
GRAFICA N° 16



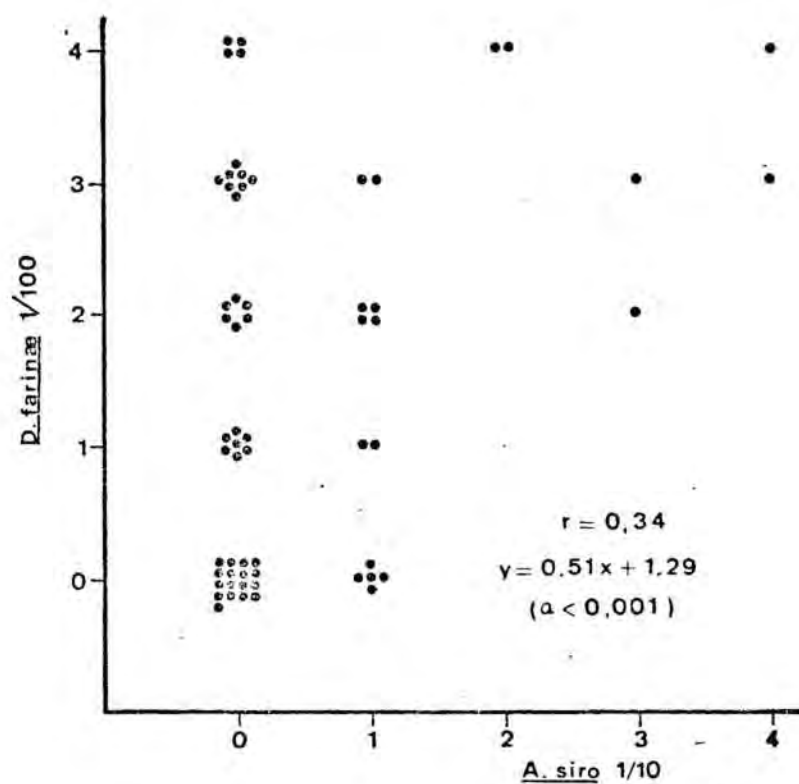
GRAFICA N° 17



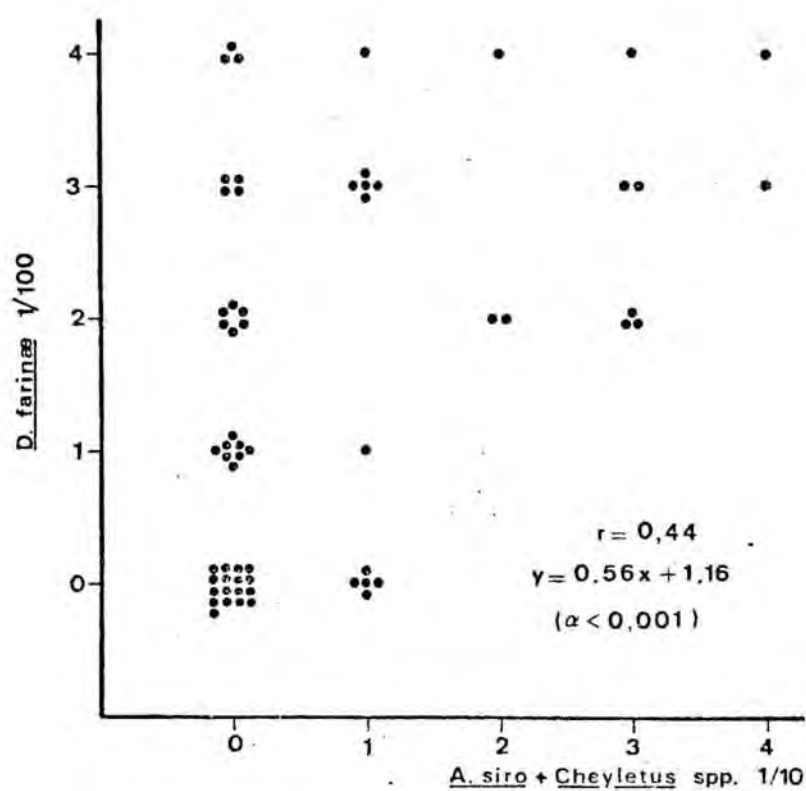
GRAFICA N°18



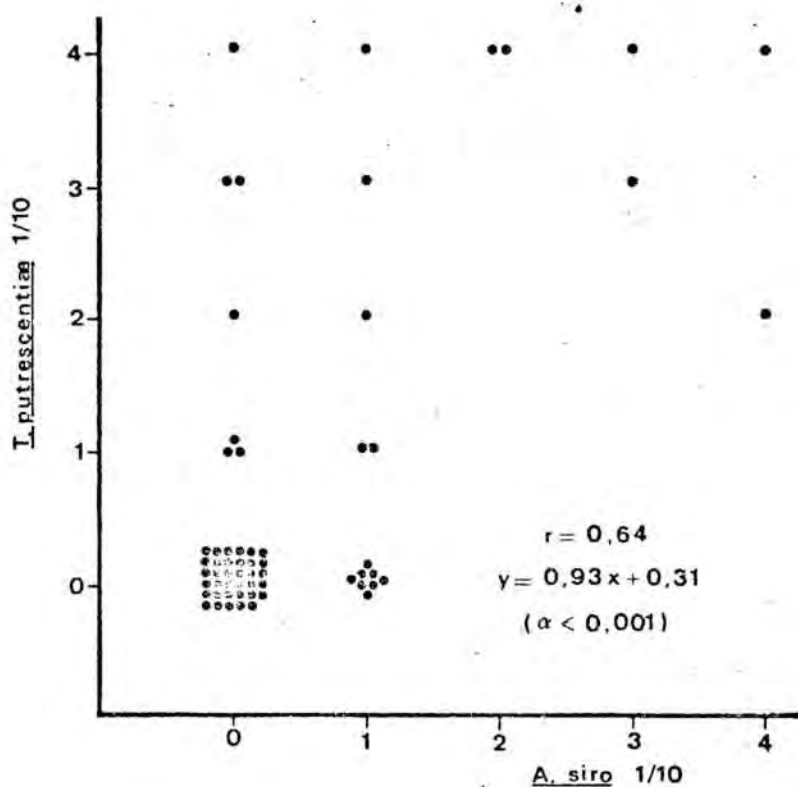
GRAFICA N°19



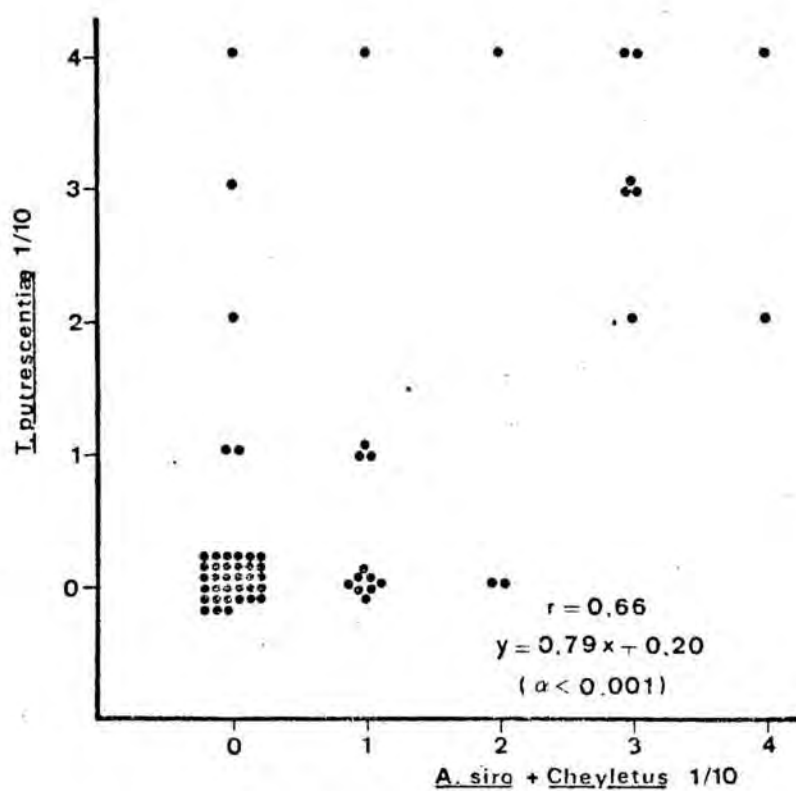
GRAFICA Nº 20



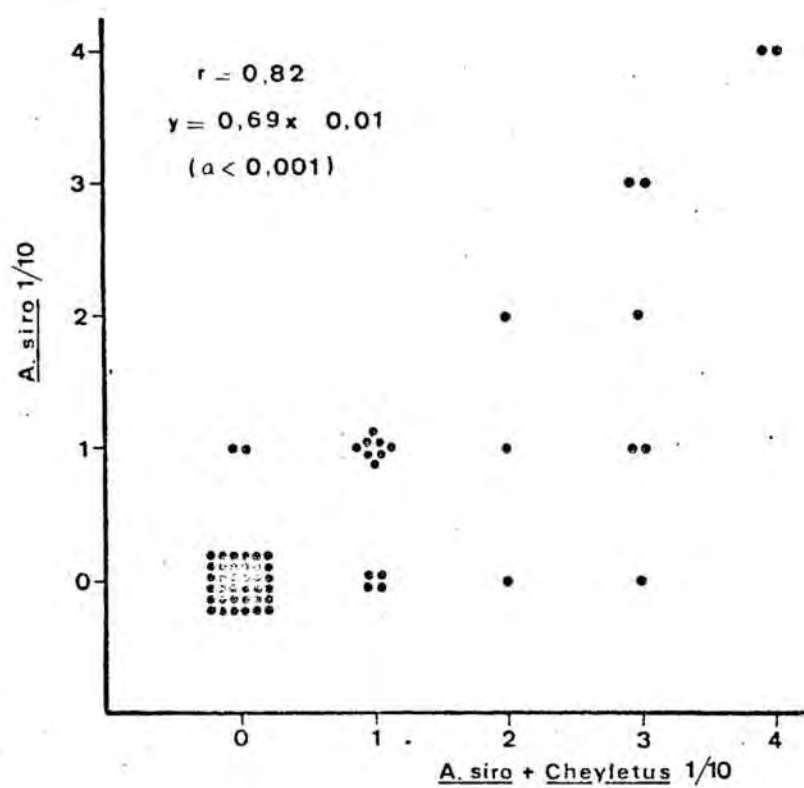
GRAFICA Nº 21



GRAFICA Nº 22



GRAFICA Nº 23



GRAFICA Nº24

4.2. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE TESTS CUTANEOS POR INTRADERMOREACCION EN CONEJOS DENSIBILIZADOS EXPERIMENTALMENTE.

Reacciones cutáneas por intradermoreacción fueron practicadas a los dos lotes de conejos:

lote a: conejos sensibilizados a los diversos extractos y que habían recibido una única inyección de antígeno.

lote b: conejos hiperinmunizados a los diversos extractos y que habían recibido varias inyecciones de antígeno, orientadas a la obtención de los antisueros correspondientes.

En ambos lotes de conejos, la máxima positividad de las pruebas cutáneas se observó al cabo de 30-35' de inyectar los antígenos (Cuadro nº 65). La lectura a las 24 horas no modificó las positividades observadas en la reacción inmediata.

Como puede observarse a partir de los resultados obtenidos, la mayoría de los animales presentaron reacciones múltiples a los diversos extractos ensayados. Casi todos los conejos presentaron una gran positividad a los extractos de Tyrophagus putrescentiae y de Acarus siro + Chayletus spp., incluido el animal usa-

do como control. Ello nos induce a suponer que dichos animales podían estar naturalmente sensibilizados a dichos ácaros, máxime cuando T. putrescentiae y las especies del género Cheyletus infestan, con gran frecuencia, los piensos que sirven para la alimentación de los animales del estabulario.

Descartando las reacciones obtenidas con tales extractos (T. putrescentiae y A. siro + Cheyletus spp.) las mayores positividades obtenidas fueron siempre al inyectar el antígeno al cual había sido sensibilizado cada uno de los animales, salvo raras excepciones.

El extracto de D. pteronyssinus dió reacción fuertemente positiva en los animales que habían sido inoculados con extractos de D. pteronyssinus, D. farinae y polvo doméstico.

CUADRO Nº 65.- Resultados de las reacciones cutáneas practicadas a conejos sensibilizados experimentalmente.

Conejo sensibilizado	D. ptero.			D. farinee			A. siro			A. siro+Chey.			Tyroph.			Polvo			Ger.Tri.			Al. peces			Esc.Hum.			Liq.Coca		
	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{20}$			
	++++	+++	++																											
D. ptero. lote A lote B	++++	+++	++																											
D. farinee lote A lote B		-	+	++++	+++	++																								
A. siro lote A lote B		+	-				++++	+++	++																					
A.siro+Chey. lote A lote B		+								+++	++																			
Tyrophagus lote A lote B		+	-																											
Polvo lote A lote B		+++	+++		+	-																								
Control		-																												

4.3. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA PRACTICA DE ENSAYOS DE INMUNODIFUSION

Al realizar las pruebas de inmunodifusión de los antisueros (obtenidos tal comose ha indidado en el Capítulo 2.4.2.1.) frente a los diversos antígenos de polvo, acaros y medios de cultivo utilizados, la mayor dificultad ha sido el encontrar la concentración adecuada de cada uno de ellos, necesaria para que se produzca el equilibrio antígeno- anticuerpo, indispensable para obtener una buena reacción de precipitación. Dificultad ya señalada anteriormente por ARAUJO-FONTAINE y cols. (4) y por MIYAMOTO y cols. (76) y que impide, hasta el momento, el poder obtener resultados concluyentes.

La intensidad y número de bandas de precipitado obtenidas ha variado, dentro de un mismo complejo antígeno--antisuero, al variar la concentración de cada uno de sus componentes.

Como resumen los múltiples ensayos realizados podemos señalar que:

EL ANTISUERO DE POLVO DOMESTICO ha dado:

- Dos claras bandas de precipitado frente al antígeno de polvo doméstico (1/1).

- Dos bandas de precipitado frente al antígeno de D. pteronyssinus (1/10, 1/20).
- Tres bandas de precipitado frente al antígeno de escamas epidérmicas humanas (1/10, 1/20 y 1/40).

Las dos bandas de precipitado observadas en cada uno de los extractos correspondieron a antígenos idénticos. (Fig. 4).

EL ANTISUERO DE D. pteronyssinus ha dado:

- Dos bandas de precipitado frente al extracto de D. pteronyssinus (1/10). Tres bandas frente al mismo extracto a concentraciones de 1/20 y 1/40; la tercera banda ha sido muy débil y se halla intercalada entre las dos anteriores. (Fig. 5).
- Dos bandas de precipitado frente al extracto de escamas humanas a 1/10, 1/20 y 1/40.
- Dos bandas de precipitado frente al extracto de polvo 1/1.

Las bandas obtenidas con extractos de D. pteronyssinus, 1/10, escamas humanas (1/10, 1/20 y 1/40) y polvo doméstico (1/1) resultaron ser producidas por antígenos idénticos.

EL ANTISUERO DE D. farinae ha dado:

- Una intensa banda de precipitado frente al extracto de D. fariane 1/10 y 1/20
- Una débil y difusa banda de precipitado frente al extracto de D. pteronyssinus 1/40

EL ANTISUERO DE T. putrescentiae ha dado:

- Una débil banda de precipitado frente a los extractos de T. putrescentiae (1/10 y 1/20), A. siro (1/20), A. siro + Cheyletus spp. (1/10 y 1/20) y germen de trigo (1/10, 1/20 y 1/40).

Las bandas de precipitado obtenidas con cada uno de los extractos resultaron corresponder a antígenos idénticos.

EL ANTISUERO DE A. siro ha dado:

- Una débil banda de precipitado frente a los antígenos de A. siro (1/10 y 1/20), T. putrescentiae (1/10 y 1/20) y germen de trigo (1/10 y 1/20).

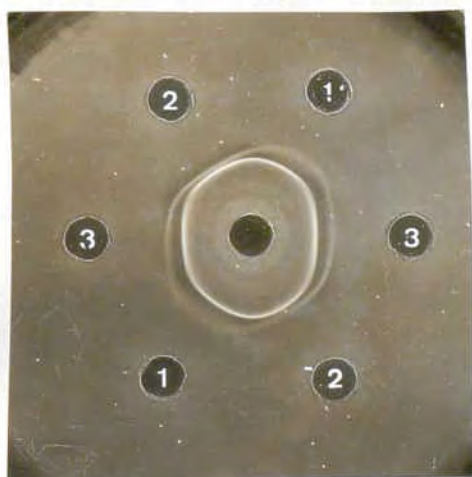
También en este caso las bandas obtenidas mostraron identidad antigénica.

EL ANTISUERO DE A. siro + Cheyletus spp. ha dado:

- Una banda de precipitado frente a los antígenos de A. siro (1/10), A. siro + Cheyletus spp. (1/20), Tyro-

phagus putrescentiae (1/10) y germen de trigo (1/10).

Nota.- Debido a la baja tasa de anticuerpos producida por los conejos inoculados de D. farinæ, A. siro A. siro + Cheyletus y T. putrescentiae, las dosis de antisuero usadas en estos casos han sido siempre el doble que la dosis de antígeno.



- Central.- Antisero de Polvo doméstico
1.- Solución antigénica de Polvo doméstico 1/1
2.- Solución antigénica de D. pteronyssinus 1/10
3.- Solución antigénica de Escamas dérmicas humanas
+ 10% de levadura.

FIGURA Nº 4.- Inmunodifusión de diversas soluciones antigénicas frente al antisuero de Polvo doméstico.



Central.- Antisuero de D. pteronyssinus
 1,2,3,4,5,6.- Solución antigénica de D. pteronyssinus
 (1/10, 1/20, 1/40, 1/60, 1/80 y 1/100).

FIGURA Nº 5.- Inmunodifusión de diversas soluciones antigénicas de D. pteronyssinus frente a su correspondiente antisuero.

4.4. DISCUSION

De entre 44 pacientes con reacción positiva al extracto de polvo doméstico, 38 dieron también positividad al extracto de D. pteronyssinus. El coeficiente de correlación entre ambos extractos fue $r=0,81$ ($\alpha < 0,001$). Esta alta correlación hallada apoya la teoría de VOORHORST y cols. (136, 137) corroborada también por gran número de autores (1, 4, 5, 7, 19, 20, 22, 23, 46, 47, 48, 56, 58, 59, 65, 66, 67, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 81, 85, 91, 92, 93, 95, 96, 97, 98, 100, 101, 108, 109, 110, 111, 112, 119, 120, 123, 125, 127, 128, 133, 134, 135, 141, 143, 144), los cuales consideran que los ácaros del género Dermatophagoides son el principal responsable del poder alergénico del polvo doméstico. Esta afirmación no descarta, sin embargo, la posibilidad apuntada por KAWAI y cols. (68) de que dichos ácaros representen únicamente algunos de los posibles alérgenos presentes en el polvo doméstico.

Al igual que en las experiencias realizadas por dichos autores, también en nuestro caso los ensayos de inmunodifusión realizados mostraron que el principal antígeno común al polvo y a D. pteronyssinus procedía de las escamas epidérmicas humanas, que constituían el medio de cultivo de éste ácaro.

SPIEKSMÁ y VOORHORST (123) señalan que aun cuando las escamas epidérmicas humanas pueden dar lugar a estados de sensibilización atópica, la concentración a la que deben ser preparados sus extractos, para poder producir reacciones cutáneas de la misma intensidad que las producidas por un extracto de polvo doméstico, es siempre muy superior a la concentración con que se hallan en este complejo ecosistema. Estos resultados sugieren la idea de que las escamas humanas, consideradas simplemente como contaminantes de los extractos de polvo doméstico y de D. pteronyssinus, pueden ser un antígeno suficientemente fuerte para los conejos y no, en cambio, el antígeno liberado por Dermatophagoides, cuya concentración en el extracto de polvo usado para la inmunodifusión e hipersensibilización es baja. La aparición de una tercera banda de precipitado al usar soluciones antigénicas diluidas (1/20, 1/40) en los ensayos de inmunodifusión del antisuero de D. pteronyssinus frente a su correspondiente antígeno, apoyaría la teoría de que la formación de anticuerpos en el conejo es superior frente al antígeno de las escamas humanas que frente al antígeno de D. pteronyssinus siempre que fuera demostrado que esta tercera banda correspondía a la precipitación del antígeno acarino. Es de señalar que la aparición de esta tercera banda coincidió con la mayor dispersión de las dos bandas obtenidas al usar una mayor concentración de extracto antigénico (1/10), bandas que por otra parte han resultado pertenecer a antígenos idénticos a los de las escamas humanas.

Los extractos de D. pteronyssinus y D. farinae mostraron una gran relación antigénica ($r=0,79$) ($\alpha < 0,001$) sin embargo, el grado de correlación entre D. farinae y el polvo doméstico fué sensiblemente menor ($r=0,65$). De acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores (33, 34, 74, 76, 93 y 128), también en nuestras experiencias el extracto de D. farinae ha mostrado, en la mayoría de los casos, una alergenicidad más débil que su especie próxima, D. pteronyssinus. Dicha concordancia de resultados entre las experiencias realizadas por diversos autores, usando distintas técnicas y métodos de valoración, nos inducen a descartar la hipótesis de VOORHORST y cols. (137, 139), los cuales opinan que ambas especies son la fuente del mismo alérgeno y que las diferencias encontradas entre ambos extractos son únicamente el resultado de la diversidad de métodos y antígenos empleados. La gran correlación existente entre las respuestas cutáneas a dichos extractos, nos induce a aceptar la teoría de STENIUS y cols. (128), los cuales señalan que si bien existe entre estas dos especies de ácaros una marcada alergenicidad cruzada, uno de los componentes responsables se halla en mayor cantidad en D. pteronyssinus que en D. farinae. La formación de una débil banda de precipitado, al difundir sobre gelosa el antígeno de D. pteronyssinus frente al antisuero de D. farinae, y la aparición de una reacción fuertemente positiva a la inyección intradérmica del extracto de D. pteronyssinus en un conejo hiperinmunizado al extracto de D. farinae, confirmaría dicha teoría, de poder demostrarse que esta débil banda de precipitación pertenece realmente al, antígeno, o a los antígenos liberados por el ácaro.

Aun cuando los extractos de las demás especies de ácaros ensayados (A. siro, A. siro + Cheyletus spp. y I. putrescentiae) dieron correlación significativa con los extractos de polvo doméstico, la intensidad de la correlación fué, en todos los casos, mucho menor que la correspondiente entre el extracto de polvo y los de las especies del género Dermatophagoides. MAUNSELL y cols. (74) señalan que el elevado número de casos en los que se presentan positividades múltiples a diversas especies de ácaros, puede ser debido tanto a una relación o parentesco antigénico entre tales ácaros, como a estados de sensibilización múltiple de los individuos ensayados. El estudio estadístico de los resultados obtenidos en la práctica de tests cutáneos en niños alérgicos, ha mostrado que la reacción obtenida en cada caso depende de dos factores: a) naturaleza y concentración del extracto ensayado, y b) disposición de cada individuo a dar una determinada respuesta; dicha disposición puede perfectamente ser debida a un estado de sensibilización múltiple a diversas especies de ácaros.

MIYAMOTO y cols. (76) señalan que las especies de la familia Tyroglyphidae presentan una antigenicidad cruzada altamente significativa con D. farinae, mientras que SPIEKSMAN y VOORHORST (123) afirman que los antígenos liberados por T. putrescentiae y A. siro son notablemente distintos a los del polvo doméstico y D. pteronyssinus.

Los bajos coeficientes de correlación hallados por nosotros entre los extractos antigénicos obtenidos de

especies del género Dermatophagoides y los obtenidos de Tyroglyphidae, nos inducen a rechazar la teoría que defiende la similitud de los antígenos liberados por unos y otros ácaros. Por el contrario, todo lo anteriormente expuesto nos conduce a considerar que la aparición de positivities múltiples frente a los diversos extractos ensayados, debe ser consecuencia de una sensibilización mixta de los individuos, aparecida como consecuencia de una previa exposición a esta compleja acarofauna. Esta sensibilización mixta no es de extrañar si tenemos en cuenta que los ácaros Tyroglyphidae pueden invadir, en ocasiones en número considerable, los productos almacenados en la despensa, además de ser de común hallazgo en el polvo doméstico.

Por otra parte, el elevado coeficiente de correlación ($r=0,64$) obtenido para las respuestas cutáneas a los diversos extractos de Tyroglyphidae (T. putrescentiae y A. siro), señala la posibilidad de que exista entre ambas especies un cierto parentesco antigénico, posibilidad apuntada ya por SPIEKMA y VOORHORST (123), quienes afirman que existe entre tales ácaros un cierto grado de relación antigénica, aunque no identidad antigénica.

A pesar de haber obtenido positivities comunes entre los extractos de A. siro, A. siro + Cheyletus spp. y T. putrescentiae en la práctica de los tests cutáneos en conejos sensibilizados e hiperinmunizados experimentalmente a tales extractos, la gran positividad que manifestaron los animales objeto de estudio, frente a los dos últimos extractos citados, nos inducen a pensar más en una sensibilización natural de los ani-

males a tales ácaros que en la existencia de reacciones cruzadas.

Por otra parte de los ensayos de inmunoprecipitación realizados parece desprenderse que el antígeno común a tales extractos sería el correspondiente al sustrato (germen de trigo) utilizado como medio de cultivo para todos ellos.

En cuanto al poder antigénico de los ácaros pertenecientes al género Cheyletus, es difícil precisar su papel exacto. La imposibilidad de obtener cultivos puros de estos ácaros, dado su carácter depredador, dificulta su estudio de una forma aislada. La positividad de las respuestas cutáneas de los pacientes analizados, ligeramente más acusadas al usar el extracto de A. siro + Cheyletus spp. que cuando se ha usado el extracto de A. siro aislado, puede indicar una diferencia antigénica entre ambos extractos.

4.5. CONCLUSIONES

1. Los ácaros del género Dermatophagoides y en particular D. pteronyssinus, son los principales responsables del poder antigénico del polvo doméstico.
2. Entre los extractos antigénicos de D. pteronyssinus y D. farinae existe similitud pero no identidad antigénica. Uno de los componentes responsables de poder antigénico se halla en mayor cantidad en D. pteronyssinus que en D. farinae.
3. Los alérgenos producidos por diversas especies de la familia Tyroglyphidae gozan, indudablemente, de antigénico, si bien ha resultado imposible determinar el grado de relación antigénica existente entre los diversos ácaros estudiados. Dichos alérgenos, por otra parte, no muestran relación alguna con los del polvo doméstico y de los ácaros Pyroglyphidae.
4. Las positividades cutáneas múltiples, que manifiestan muchos pacientes a diversas especies de ácaros de frecuente hallazgo en el polvo doméstico, serían debidas no tanto a la similitud antigénica de tales ácaros, como a estados de sensibilización múltiple del individuo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES FINALES

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES FINALES

Con objeto de estudiar la fauna de ácaros presente en el polvo doméstico de Barcelona y su influencia en las atopias respiratorias, se ha realizado un estudio bibliográfico detallado sobre la acarofauna pulvícula doméstica y su papel en la producción del alergeno característico del polvo doméstico.

Como premisa a la iniciación del trabajo se ha procedido al estudio y desarrollo de un método práctico experimental para la separación, aislamiento, recuento e identificación de los ácaros del polvo, método cuya técnica se describe y discute con detalle, comparándola a las utilizadas con un fin similar por otros autores.

Una vez desarrollado un método idóneo de trabajo se ha realizado un estudio completo, cuanti y cualitativo de 182 muestras de polvo doméstico de Barcelona y poblaciones circundantes. En todas las muestras recogidas se ha hecho un estudio total y conjunto de la acarofauna presente en las viviendas en donde se recogieron. En una parte de estas viviendas se han estudiado muestras fraccionadas con el fin de obtener una visión comparativa de esta acarofauna pulvícula. Este estudio ha permitido comprobar la existencia de importantes variaciones cuanti y cualitativas de las poblaciones acarinas recogidas en camas, suelo de los dormitorios y resto de las habitaciones.

Ante la gran variación existente en las diversas muestras estudiadas se ha intentado esclarecer el papel ejercido por diferentes factores en la composición de esta fauna acarina. La influencia ejercida por la H.R. ambiental, variaciones estacionales, métodos de limpieza utilizados en el hogar, etc., han sido los principales factores estudiados y los datos obtenidos han sido sometidos a un análisis estadístico, del cual se han obtenido interesantes conclusiones.

Se ha procedido igualmente a una comparación estadística entre los datos obtenidos a partir de las muestras procedentes de viviendas donde residían niños con atopias respiratorias, debidas al polvo doméstico, y los obtenidos en los restantes domicilios.

A la vista de los resultados que nos han proporcionado los estudios antes citados, la parte final de este trabajo se ha orientado al estudio experimental de la relación existente entre las especies más frecuentes en esta acarofauna y la génesis de las atopias respiratorias, de las cuales el polvo doméstico es el agente etiológico.

Para proceder a este estudio se ha tenido que obtener cultivos de estos ácaros y proceder a la preparación de los correspondientes extractos antigénicos.

Una vez obtenidos tales extractos se ha realizado el estudio de sus posibles relaciones antigénicas. Para

ello se ha practicado: a) tests cutáneos por punc-
tura en niños alérgicos al polvo doméstico; b) reacciones
cutáneas por intradermoreacción en conejos sensibili-
zados experimentalmente a los diversos extractos anti-
génicos; c) pruebas de inmunodifusión de los diversos
extractos antigénicos frente a sus correspondientes
antisueros, obtenidos por hiperinmunización de cone-
jos con dichos extractos.

El desarrollo de nuestra labor experimental y los re-
sultados consiguientes nos han permitido llegar a las
conclusiones generales que exponemos a continuación.

1. Con respecto a la composición de la Acarofauna pul-
vícola de Barcelona y su relación con las atopias res-
piratorias:

a) La presencia de ácaros es constante en el polvo do-
méstico de nuestra ciudad, habiendo resultado positivas
el 100% de las muestras estudiadas.

b) Dicha acarofauna está compuesta mayoritariamente por
especies pertenecientes a la familia Pyroglyphidae, sien-
do Dermatophagoides pteronyssinus la más representativa.

c) Los ácaros Pyroglyphidae son los principales respon-
sables del poder alérgico del polvo doméstico. Los
antígenos liberados por diversas especies de dicha fa-
milia son similares pero no idénticos.

d) Además de los ácaros Pyroglyphidae, el polvo doméstico puede albergar otras muchas especies de Acarina, pertenecientes a otros grupos y cuya densidad y frecuencia es más o menos constante o esporádica. De entre ellos destacan, por la frecuencia de su hallazgo, diversas especies pertenecientes a las familias Tyroglyphidae, Glycyphagidae y Cheyletidae.

e) A pesar de que los antígenos liberados por estos ácaros son notablemente distintos a los del polvo doméstico y a los de los ácaros Pyroglyphidae, la frecuencia de su hallazgo en el polvo de las casas o en sus despensas, puede dar lugar a sensibilizaciones mixtas en influir, por lo tanto, en la presencia de manifestaciones atópicas.

2. En cuanto a la influencia de diversos factores en la composición de la fauna acarina:

a) La presencia de un elevado grado de H.R. es el factor determinante para la supervivencia y desarrollo de dichos ácaros.

b) La variación estacional que experimenta la densidad de la acarofauna doméstica está íntimamente ligada a la variación estacional que experimenta la H.R. atmosférica.

c) El uso frecuente del aspirador para la limpieza de la casa reduce el número de individuos de su población acarina.

d) El hábitat primario de D. pteronyssinus lo constituyen los colchones y ropas de cama, donde este ácaro encuentra las condiciones climáticas y alimenticias óptimas para su desarrollo.

e) La naturaleza del colchón no influye en la densidad de la población acarina que alberga.

Lo hasta aquí expuesto no hace sino resaltar la necesidad de una continuidad en las investigaciones a realizar en este incipiente campo de la acarología, en el que ~~est~~ están todavía numerosas lagunas que explorar.

BIBLIOGRAFIA
=====

BIBLIOGRAFIA

1. ALANI, M. y HJORTH, N.- "Sensitivity to house-dust mites in atopic dermatitis". Acta Allergol. 25(1). 41-47, 1970.
2. ALEXANDER, J. O'D.- "Mites and Skin Diseases". Clin. Med. 79. 14-19, 1972.
3. ANCONA, G.- "Asma epidemico da Pediculoides ventricosus". Policlinico (Sez. Med.), 30: 45, 1923.
4. ARAUJO-FONTAINE, A.; BASSET, A.; GALLOT, J.; MALEVILL, J. y WAGNER, M.- "Anticorps seriques anti-poussieres dans l'atopie: Rôle antigenique des Acariens des poussieres domestiques. Mise en evidence d'une similitude antigénique entre les poussieres domestiques et certaines especes d'Acariens". C.R. Seances, Soc. Biol. Filiales. 164(12): 2650-2654, 1970
5. ARAUJO-FONTAINE, A.; WAGNER, M.; MOREAU, G. y BASSET, A. "Elevage des Acariens de la poussière domestique et recherche des anticorps précipitants anti-poussière et anti-acariens, par immunodiffusion en gelose". Rev. franç Allergol., 12(3): 231-238, 1972.
6. ARAUJO-FONTAINE, A.; WAGNER, M. y KREMER, M.- "Contribution à l'étude des acariens de la poussiere domestique en Alsace. Relations avec les conditions d'habitat". C.R. Soc. Biol., 167 (2), 1973.
7. ASSEM, E.S.K. y MCALLEN, M. K.- "Serum reagins and leukocyte response in patients with house-dust mite allergy". Brit. Med. J. 2(5708): 504-507, 1970.
8. BAKER, E. W.; EVANS, T. M.; GOULD, D. J.; HULL, W. B. y KEEGAN, H.L.- "A manual of parasitic mites of medical or economic importance". Nat. Pest. Control Assc. New York, 1956.
9. BAKER, E. W. t WHARTON, G. W.- "An Introduccion to Acarology". The Macmillan Company, New York, 1952.

10. BERRENS, L.- "A proposed mechanism for the inactivation of atopic allergens in dilute solution". Immunochemistry, 4: 37, 1967.
11. BERRENS, L. y BLEUMINK, E.- "Spectroscopic evidence for N-glycosidic linkages in atopic allergens". Int. Arch. Allergy, 28: 150, 1965.
12. BERRENS, L. y VERSIE, E.- "Antigenic relationships in atopy. II. Cross-reactions of anti house dust sera with inhalant glycoprotein allergens from different sources" Acta Allerg., 22: 347, 1967.
13. BERRENS, L.; YOUNG, E. y ZUIDEMA, P.- "A comparative chemical and clinical investigation of house dust extracts from alpine and lowland regions". Acta Allerg., 26(3): 200-212, 1971.
14. BLASCO, C. y PORTUS, M.- "Presencia en Europa de Malayoglyphus carmelitus Spieksma, 1973 (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes). Rev. Iber. Parasitol., 33(4):649-661, 1973,
15. BOGDANOV, A.- "Deux acariens trouvés par M. Scheremetewsky sur l'homme". Bull. Soc. imp. nat. Moscou, 37: 341, 1864.
16. BROHMER, P.; EHLMANN, P. y Ulmer, G.- "Die Tierwelt Mittel Europas". Verlag von Quelle and Meyer, Leipzig.
17. BRONSWIJK, J. E. M. H. van.- "Haustaub-ökosystem und Hausstaub-Allergen". Acta Allergol., 27: 219-228, 1972.
18. BRONSWIJK, J. E. M. H. van y SINHA, R. N.- "Pyroglyphid mites (Acari) and house dust allergy". J. Allergy, 47(1): 51-52, 1971.
19. BUCHANAN, D. J. y JONES, I. G.- "Allergy to house-dust mites in the Tropics". Brit. Med. J. 3(5829), 1972.

20. BULLOCH, J. D.; BODENBENDER, J. G.; DEAMER, W. C. y FRICH, O.L.- "Skin window eosinophil response in house-dust allergy". J. Allergy Clin. Immunol. 48(3): 153-160, 1971.
21. CARTER, H. F.; WEDD, G. y D'ABRERA, U.- "The occurrence of mites (Acarina) in human sputum and their possible significance". Indian Med. Gaz., 79: 163, 1944.
22. COLLEDAHL, H.- "Inhalation tests with various dusts and Mite extracts". Acta Allerg. 28(3), 1973.
23. COMAMALA DE FLORENZA, C.- "Acaros que conviven con el hombre y su influencia en asma y alergias respiratorias". An. de Med. (Secc. Especialidades). Acad. Ciencias Med. de Cataluña y Baleares. 56(4), 1970.
24. COOKE, R. A.- "Studies in specific hypersensitiveness. IV. New etiologic factors in bronchial asthma". J. Immunol, 7: 147, 1922.
25. COOREMAN, J.- "Sur un Acarien nouveau, prejudiciable aux matières alimentaires entreposées: Mealia maynei n. sp." Buil. et Ann. Soc. Entom. Belgique, 86 (5-6): 164-168, 1950.
26. CORNERE, B. M.- "House-dust mites: A National Survey". New Zealand Med. J. 76(485), 1972.
27. CUNNINGTON, A. M.- "Physical limits for complete development of the grain-mite, Acarus siro L. (Acarina, Acaridiae), in relation to its world distribution". J. appl. Ecol. 2: 295-306, 1965.
28. CUNNINGTON, A. M.- "Physical limits for complete development of the copra mite, Tyrophagus putrescentiae (Schrank) (Acarina, Acaridiae)". Proc. 2nd. Int. Congress of Acarology, 1967.
29. CUNNINGTON, A. M.- "The mite fauna of house-dust". Proc. Brit. Allergy Soc., Acta Allerg., 22: 415, 1967.

30. CUNNINGTON, A. M.- "House dust mites and respiratory allergy: a note on the identity of Dermatophagoides farinae Hughes, 1961". Clin. Allergy, 1(4), 1971.
31. CUNNINGTON, A. M. y GREGORY, P. H.- "Aspects particuliers de la poussiere de maison". Médecine et Hygiène 8 (887): 1139, 1969.
32. CUNNINGTON, A. M. y GREGORY, P. H.- "Mites in Bedroom Air". Nature, 217(5135): 1271-1272, 1968.
33. CHARPIN, J.; AUTRAN, P.; PENAUD, A.; NOURRIT, J. y AZZOUK, H. R.- "A parasite of house-dust: The Dermatophagoides. Its role in respiratory allergy". Nouvelle Presse Med. 1(13), 1972.
34. CHARPIN, H.; PENAUD, A.; NOURRIT, J.; AUTRAN, P. y RAZZOUK, H.- "Allergy to house dusts and Dermatophagoides". Rev. franç. Allergol. 11(4): 315-328, 1971.
35. DEKKER, H.- "Asthma und Milben". Münch. med. Wschr., 75: 515.
36. FAIN, A.- "Notes sur le genre Dermatophagoides Bogdanov. Description d'une espece nouvelle (Acarina: Psoroptidae)". Rev. Zool. Bot. Afr., 69(1-2), 1964.
37. FAIN, A.- "Les acariens nidicoles et detriticoles de la famille Pyroglyphidae Cunliffe (Sarcoptiformes)". Rev. Zool. Bot. Afr. 72(3-4): 256-288, 1965.
38. FAIN, A.- "Nouvelle description de D. pteronyssinus (Troussart, 1897). Importance de cet acarien en pathologie humaine (Psoroptidae: Sarcoptiformes)". Acarologia, 8(2), 1966.
39. FAIN, A.- "Le genre Dermatophagoides Bogdanov 1864. Son importance dans les allergies respiratoires et cutanées chez l'homme (Psoroptidae: Sarcoptiformes)". Acarologia 9(1): 179-225, 1967.
39. FAIN, A.- "Deux nouvelles especes de Dermatophagoidinae de la region du Kivu (Republique Democratique du Congo) (Acarina: Sarcoptiformes). Bull. Inst. Roy Sci. Natur. Belg. 47(8): 1-5, 1971.

41. FAIN, A. y BRONSWIJK, I.E.M.H. van.- "On a new species of Dermatophagoides (D. neotropicalis) from house-dust, producing both normal and heteromorphic males (Sarcoptiformes: Pyroglyphidae)". Acarologia 15(1): 181-187, 1973.
42. FAIN, A. y CACERES, I.- "Notes sur la faune acarologique de l'Angola. Familles Acaridae, Saproglyphidae, Glycyphagidae et Pyroglyphidae (Sarcoptiformes)". Publ. cult. Co. Diam. Ang., Lisboa, 87: 105-128, 1973.
43. FAIN, A.; CUNNINGTON, A. M. y SPIEKSMAN, F. Th. M.- "Malayoglyphus intermedius n.g., n.sp., a new mite from house dust in Singapore and Djakarta (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes)". Acarologia 11(1): 121-126, 1969.
44. FAIN, A. y FEINBERG, J. C.- "Un nouvel acarien provenant des poussières d'une maison à Singapour (Sarcoptiformes: Pyroglyphidae)". Acarologia 12(1): 164-168, 1970.
45. FAIN, A. y WHARTON, G. W.- "Un nouveau Dermatophagoidinae from Guatemala (Pyroglyphidae: Sarcoptiformes)". Bull. Inst. Roy. Sci. Natur. Belg., 46(27): 1-4, 1970.
46. FRANKLAND, A. W.- "House Dust Mites and Allergy". Arch. Dis. Child. 47(253), 1972.
47. FRANKLAND, A. W.; McEVEN, L. M. y FEINBERG, J.C.- "Skin reactions to dust and mites". Int. arch. Allergy Appl. Immunol. 37(4): 351-356, 1970.
48. GERVAIS, P.; MARCHENAY, Y. y LECORSIER.- "Chemical comparison of extracts of Dermatophagoides pteronyssinus and house-dust. Immunological consequences". Acta Allergol., 28(1): 76, 1973.
49. GITCHO, F. y REES, P.- "High altitude and house-dust mites". British Med. J. 3: 475, 1971.

50. GOLDSCHMIDT, H. y KLEEGMAN, A. M.- "Quantitative estimation of keratin production by the epidermis". Arch. Dermat., 88: 709, 1964.
51. GRIDELET, D. y LEBRUN, Ph.- "Contribution a l'etude écologique des acariens des poussières de maisons". Acarologia, 15(3): 461-477, 1974.
52. GRIFFITHS, D. A.- "A revision of the genus Acarus L., 1758 (Acaridae, Acarina)". Bull. British Mus. (Nat. History) Zool. 2(6), 1964.
53. GRIFFITHS, D. A.- Discusión en el Simposium del 2º. Congreso Int. de Acarologia. Acarologia 11 (3): 503, 1969.
54. GRIFFITHS, D. A.- "A further systematic study of the genus Acarus L., 1758 (Acaridae: Acarina), with a key to species". Bull. British Mus. (Nat. History) Zool., 19(2): 85-118, 1970.
55. GRIFFITHS, D. A. y CUNNINGTON, A. M.- "Dermatophagoides microceras sp. n.: A description and comparison with its sibling species, D. farinae Hughes, 1961". J. Stored Prod. Res., 7(1): 1-14, 1971.
56. HAARLN, N. y ALANI, M.- "House dust mites (Dermatophagoides pteronussinus (Trt.), D. farinae Hughes, Euroglyphus maynei (Cooreman) Fain) in Denmark (Acarina)". Entomol. Scand., 1(4): 301-306, 1970.
57. HALL, C. C. Jr. y McMAHON, B.- "Collecting and rearing Dermatophagoides farinae Hughes, a mite from house dust". Ann. Allergy, 29(2): 81-85, 1971.
58. HANISSIAN, A. S.; CRAWFORD, LL. V. y ROANE, J.- "Antigenic relationship of various house-dust antigens". Ann. Allergy, 27(12): 571-574, 1969.
59. HOLFORD-STREEVENS, V.; WIDE, L. MILNE, J. F. y PEPYS J.- "Allergens and Antigens of Dermatophagoides farinae". Clin. Exp. Immunol., 6: 49-59, 1970.
60. HUGHES, A. M.- "The mites associated with stored food products". H.M.S.O., Londres, 1948.

61. HUGHES, A. M.- "On a new species of Dermatophagoides belonging to the family Psoroptidae Canestrini 1892 (Acarina)". Proc. Zool. Soc. Londres, 124(1): 1-12, 1954.
62. HUGHES, A. M.- "The mites of stored food". H.M.S.O. Londres, 1961.
63. HUGHES, T. E.- "Mites or the Acari". Athlone Press, Londres, 1959.
64. INDRAJANA, T. M. D.; SPIEKSMAN, F. Th. M. y VOORHORST R.- "Comparative Study of the Intracutaneous, Scratch and Prick Tests in Allergy". Ann. Allergy, 29(12), 1971.
65. ISHII, A.; MATSUHASHI, T.; MIYAMOTO, J. y SASA, M.- "Production of Homocytotropic Antibody in Guinea Pigs Inhalated with Extract of the house-dust Mite Dermatophagoides farinae". Japan. J. Exp. Med. 43(1): 25-32, 1973.
66. ISHII, A.; NODA, K. y ESHITA, Y.- "Lasting Production of Homocytotropic Antibody in Guinea Pigs by the Mite Extract, Dermatophagoides farinae". Japan. J. Exp. Med., 43(4): 349, 1973.
67. ISHII, A. NODA, K.; OHSAWA, T.; KATO, I. y YOKOTO, M.- "Biological and biochemical properties of the house-dust mite extract, Dermatophagoides farinae". Japan. J. Exp. Med. 43(6): 496-507, 1973.
68. KAWAI, T.; MARSH, D. G.; LICHTENSTEIN, L. M. y NORMAN P. S.- "The allergens responsible for house-dust allergy. I. comparison of Dermatophagoides pteronyssinus and house dust extracts by assay of histamine release from allergic human leukocytes". J. Allergy Clin. Immunol., 50(2): 117-127, 1972.
69. KERN, A.- "Dust sensitization in bronchial asthma". Med. Clin. N. Amer., 5: 751, 1921.
70. KLIGMAN, A. M.- "The biology of the stratum corneum". The Epidermis, Academic Press, Nueva York, 1964.

71. KOEKKOEK, H. H. M. BRONSWIJK, J. E. M. W. van .- "Temperature requirements of a house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus compared with the climate in different habitats of houses". Entomol. Exp. Appl., 15(4): 438-442, 1972.
72. KRISHNA RAO, N. S.; KHUDDUS, D. A. y CHANNABASAVANNA G. P.- "Pyroglyphid Mites in Man and His Surroundings". Current Science, 42(1), 1973.
73. LARSON, D. G.; MITCHELL, F. y WHARTON, G. W.- "Preliminary studies on Dermatophagoides farinae Hughes 1961 (Acari) and house dust allergy". J. Med. Entomol., 6(3): 295-299, 1969.
74. MAUNSELL, K.; WRAITH, D. G. y CUNNINGTON, A. M.- "Mites and house dust allergy in bronchial asthma". Lancet, 1: 1267-1270, 1968.
75. MIYAMOTO, T.; OSHIMA, S.; ISHIZAKI, T. y SATO, S.- "Allergenic identity between the common floor mite (Dermatophagoides farinae) and house dust as a causative antigen in bronchial asthma". J. Allergy, 42: 14, 1968.
76. MIYAMOTO, T.; OSHIMA, S.; MIZUNO, K.; SASA, M. y ISHIZAKI, T.- "Cross-antigenicity among six species of dust mites and house-dust antigens". J. Allergy 44(4): 228-238, 1969.
77. MIYAMOTO, T.; OSHIMA, S. y ISHIZAKI, T.- "Antigenic relation between house-dust and a dust mite, Dermatophagoides farinae Hughes, 1961 by a fractionation method". J. Allergy 44(5): 282-291, 1969.
78. MIYAMOTO, T.; OSHIMA, S.; DOMAE, A.; TAKAHASHI, K.; IZEKI, M.M. TANAKA, T. y ISHIZAKI, T.- "Allergenic Potency of Different house dusts in relation to contained mites". Ann. Allerg., 28: 405-412, 1970.
79. MORRIS, J. H.; BERRENS, L. y YOUNG, E.- "The carbohydrate moiety of house dust allergen". Clin. Chim. Acta, 12: 407, 1965.
- 80.-- MURPHY, P. W.- "Progress in soil zoology". Butterworths, Londres, 1952.

81. NEGRINI, A. C.; BELLONI, L. y MANCA, D.- "Correlazioni tra cutireacettività ad estratti di Dermatophagoides pteronyssinus e di polveri ambientali in allergopatici respiratori". Boll. Soc. Ital. Biol. sperimentale, 48(22): 864-867, 1972.
82. NOON, L.- "Prophylactic inoculation against hay fever". Lancet, 1: 1572, 1911.
83. ORDMAN, D.- "The incidence of "climate asthma" in South Africa: Its relation to the distribution of mites". S. Afr. Med. J., 45(27): 739-743, 1971.
84. OSHIMA, S.- "Observations of flour mites collected in Yokohama". Jap. J. sanit. Zool., 15: 233, 1964.
85. OSHIMA, S.- "Studies on the genus Dermatophagoides (Psoroptidae: Acarina) as floor-mites, with special reference to the medical importance". Jap. J. Sanit. Zool., 18(4): 213-215, 1967.
86. OSHIMA, S.- "Redescription of three species of Mealia Trouessart, 1897 (Acarina:Pyroglyphidae) from house-dust in Japan". Jap. J. Sanit. Zool., 19(3): 165-191, 1968.
87. OSHIMA, S.- "Studies on the mite fauna of the house dust of Japan and Taiwan with special reference to house dust allergy". Jap. J. Sanit. Zool., 21(1): 1-17, 1970.
- 88.- OUCHTERLONY, O.- "Diffusion in gel methods for immunological analysis". Prog. Allergy, 6(30), 1962.
89. OUDEMANS, A. C.- "Kritisch Historisch koverzicht der Acarologie". E. J. Brill, Leiden, 1969.
90. OWEN EVANS, G.; SHEALS, J. G. y McFARLANE, D.- "The terrestrial acari of the British Isles". British Museum Natural History, London, 1961.
91. PAULI, G. BESSON, J. C.; GUIARD, G.; ROEGEL, E. y OUDET, P.- "Importance clinique des acariens chez les asthmatiques allergiques a la poussière domestique. Resultat des tests de provocation ventilatoire". Rev. franç. Allergol., 12(2): 141-153, 1972.

92. PELIKAN, Z. y VRIES, k.- "Comparison of the Nasal Mucosa Response on challenge of House Dust and Mites (Dermatophagoides pteronyssinus) Allergens". Acta Allergol., 27(3), 1972.
93. PEPYS, J.; CHAN, M. y HARGREAVE, F. E.- "Mites and house-dust allergy". Lancet, 1: 1270-1274, 1968.
94. PLANES, M.; QUEINNEC, C.; PAUPE, J. y VIALATTE, J.- "Allergie a la poussière de maison chez l'enfant. Contingence des tests cutanés". Rev. franç. Allergol. 12(2): 125-140, 1972.
95. PALMA CARLOS, A. G.; MIGUEIS CLODE, M. H.; TRINDADE, J. C. y CESAR RAMOS, J. M.- "Allergie à la poussière de maison et acariens". Nouvelle Presse med., 2(20): 1373, 1973.
96. PENAUD, A.; NOURRIT, J.; AUTRAN, P. TIMON DAVID, P. y NICOLI, R. M.- "Donnes actuelles sur les Acariens Pyroglyphides des poussières de maison". Ann. Parasitol., 47(4): 631-662, 1972.
97. REY CALERO, J. y GARCIA DE LOMAS, J.- "Los ácaros sensibilizantes del polvo doméstico". Medicina Tropical 47(4), 1971.
98. REY CALERO, J. y GARCIA DELOMAS; J.- "Neumoalergenos extrínsecos con estudio preferencial del polvo de casa y sus ácaros". Medicamenta, 59(499), 1972.
99. RADFORD, Ch. C.- "Systematic check List of Mite genera and type species". Secretariat général de l'U. I.S.B., 1950.
100. REES, P. H.; GITOH, F.; MITCHELL, H. S. y REES, C.- "Some aspects of the aetiology of asthma in Nairobi with special reference to parasites and the house dust mite". E. Afr. med. J., 51(10): 729-733, 1974.
101. RUFLI, T.- "The significance of mites as allergens". Dermatologica (Basel), 140(2): 46-64, 1970.
102. ROUSSET, G.- "Contribution à l'étude systématique et écologique des Acariens impliqués dans l'allergie respiratoire à la poussière de maison". Tesis de la Fac. de Med. de Montpellier, 105 pp., 1971.

- 103.- SASA, M.- "mites of the genus Dermatophagoides Bogdanoff, found from three cases of human acariasis". Jap. J. Exp. Med., 20: 519, 1950.
- 104. SCHWARTZ; D.- "Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes". Flammarion Médecine Sciences, 3^e. Ed., 1969.
105. SESAY, H. R. y DOBSON, R. M.- "studies on the mite fauna of house dust in Scotland with special reference to that of bedding". Acarologia, 14(3): 384-393, 1972.
106. SHAMIYEH, N. B.; HORNSBY, R. P.; BENNET, S. E. y WOODICE, N. L.- "Distribution of house dust mites in the environs of the Tennessee River Volley". J. Eco. Ent. 66(4): 998-999, 1973.
107. SHARP, J. L. y HARAMOTO, F. H.- "Dermatophagoides pteronyssinus (Trouessart) and other Acarina in house dust in Hawaii". Proc. Hawaii Entomol. Soc., 20 (3): 583-589, 1970.
108. SINHA, R. N., BRONSWIJK, J. E. M. H. van y VALLACE, H. A. H.- "House dust allergy, mites and their fungal associations". Canada Med. Ass. J., 103: 300, 1970.
109. SMITH, A. P.- "Hyposensitization with Dermatophagoides pteronyssinus antigen: trial in asthma induced house-dust". British Med. J., 4: 204-206, 1971.
110. SMITH, M.- "Clinical findings in children with allergy to house dust mites". Acta Allergol., 25: 37-40, 1970.
111. SMITH, M.; DISNEY, M. E.; WILLIAMS, J. B. y GOELS, Z. A.- "Clinical significance of skin reactions to mite extracts in children with asthma". British Med. J. 2(5659): 723-726, 1969

112. SMITH, M. y PIZARRO, Y. A.- "Hyposensitización with extracts of Dermatophagoides pteronyssinus and house dust". Clinical Allergy, 2(3): 281-283, 1972.
113. SOLOMON, M. E.- "Control of humidity with potassium hydroxide, sulphuric acid, or other solutions". Bull. of Entomol. Reserch, 42(3): 543-554, 1951.
114. SOLOMON, M. E.- "Interacction of a predator and physical factors in the control of a grain mite". Verch. int. Kongr. ent., Wien, 1: 768-772, 1960.
115. SOLOMON, M. E.- "Mites in houses, shops and other occuppies buildings". The Sanitarian, 1961.
116. SOLOMON, M. E.- "Experiments of predator-prey interactions of storage mites". Acarologia 11(3): 484-501, 1969.
117. SOLOMON, M. E. y CUNNINGTON, A. M.- "Rearing acaroid mites". Acarologia, 6 (h.s.), 1964.
118. SOYSA, E.; JAYAWARDENA, M. R. S.- "Pulmonay acariasis: a possible cause of asthma". British Med. J., 1:1, 1945.
119. SPIEKSMA, F. Th. M.- "The house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus (Trouessart, 1897) producer of the house dust allergen (Acari: Psoroptidae). Ph. D. Tesis, Universidad de Leiden, Holanda, pp. 65 1967.
120. SPIEKSMA, F. Th. M.- "The importance of acaridan allergens". Rev. franç. Allergl. 13(2): 133-148; 1973.
121. SPIEKSMA, F. Th. M.- "Malayoglyphus carmelitus n. sp., a new mite from a house on Mount Carmel (Pyroglyphidae, Sarcopitiformes)". Acarologia, 15(1): 171-180, 1973.
122. SPIEKSMA, F. Th. M. y SPIEKSMA-BOEZEMAN, M. J.- "The mite fauna of house dust with particular reference to the house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus (Trouessart, 1897) (Psoroptidae: Sarcopitiformes)". Acarologia, 9: 226, 1967.

123. SPIEKSMÁ, F. Th. M. y VOORHORST, R.- "Comparison of skin reactions to extracts of house dust mites, and human skin scales". *Acta Allergol.*, 24(2): 124-146, 1969.
124. SPIEKSMÁ, F. Th. M.; ZUIDEMA, P. y LEUPEN, M. J.- "High altitude and house dust mites". *British Med. J.*, 1: 82-84, 1971
125. STENIUS, B.- "Skin and provocation tests with Dermatophagoides pteronyssinus in Allergic Rhinitis. Comparison of Prick and Intracutaneous test. Methods and correlation With Specific IgE". *Acta Allergol.*, 28(2): 81-100, 1973.
126. STENIUS, B. y CUNNINGTON, A. M.- "House dust Mites and respiratory allergy: A quantitative survey of species occurring in Finnish house-dust". *Scand. J. resp. Dis.*, 53: 338-348, 1972.
127. STENIUS, B. y WIDE, L.- "Reaginic antibody (IgE), skin, and provocation tests to Dermatophagoides cullinae and house dust in respiratory allergy". *Lancet*, 2 (7618): 455-458, 1969.
128. STENIUS, B. WIDE, L.; SEYMOUR, W. M.; HOLFORD-STRE-VENS, V. y PEPYS, J.- "Clinical significance of specific IgE to common allergens. I. Relationship of specific IgE against Dermatophagoides spp. and grass pollen to skin and nasal tests and history". *Clin. Allergy*, 1(1): 37-55, 1971.
129. STORM VAN LEEUWEN, W.- "Ueber die Spezifizitat der Allergeureaktionen". *Z. Immunitätsf.*, 62: 360, 1929.
130. STORM VAN LEEUWEN, W.; BIEN, A. y VAREKAMP, H.- "Experimentelle allergische Kraukheiten (Asthm bronchiale, rhinitis vasomotoria)". *Z. Immunitätsf.*, 40: 552, 1924.
131. STORM VAN LEEUWEN, W.; BIEN, A. y VAREKAMP, H.- "Ueber die Hautreaktion mit Extrakten menschlicher Kopfhautschuppen bei allergischen Kraukheiten". *Klin. Wschr.*, 5, 1926.

132. VAREKAMP, H.- "De exogene oorzaken van asthma bronchiale". Thesis, Leiden, 1925.
133. VIRCHOW, CHR. y DEBELIC, M.- "House dust allergy and Dermatophagoides pteronyssinus: (Comparative cutaneous and inhalation tests between various house-dust extracts and mite extracts from D. pteronyssinus)". Munchen Med. Wschr., 112(8): 331-336, 1970.
134. VOORHORST, R.- "Quantitative aspects of the problem of house-dust atopy and house-dust mites". Acta Allergol., 25(4): 237-254, 1970.
135. VOORHORST, R.- "Importancia clinica de la alergia a los ácaros del polvo doméstico en la patogenia del asma bronquial". Med. Klin., 142: 71-80, 1973.
136. VOORHORST, R.; SPIEKSMAN-BOEZEMAN, M.I.A. y SPIEKSMAN, F. Th. M.- "Is a mite (Dermatophagoides sp.) the producer of the house dust allergen?". Allergie asthma, 6: 329, 1964.
137. VOORHORST, R.; SPIEKSMAN, F. Th. M.; VAREKAMP, H.; LEUPEN, M. J. y LYKLEMA, A. W.- "The house dust mite (Dermatophagoides pteronyssinus) and the allergens it produces. Identity with the house-dust allergen". J. Allergy, 39(6), 1967.
138. VOORHORST, R. y SPIEKSMAN, F. Th. M.- "Recent progress in the house-dust mite problem". Acta Allergol., 24(2): 115-123, 1969.
139. VOORHORST, R.; SPIEKSMAN, F. Th. M. y VAREKAMP, H.- "House dust atopy and the house dust mite". Stafleu's Scientific Pub. Com., Leiden, 1969.
140. WAKI, S. y MATSUMOTO, K.- "Studies on the environmental requirements for the breeding of the dust mite, Dermatophagoides farinae Hughes, 1961. Part 2. Observations on the mode of breeding in various kinds of food". Japan. J. Sanit. Zool., 24(2): 117 - 121, 1973.

141. WHARTON, G. W.- "Mites and commercial extracts of house dust". Science (Washington), 167(3923): 1382-1383, 1970.
142. WONGSATHUAYTHONG, S. y LAKSHANA, P.- "House-dust mite survey in Bangkok and other provinces in Thailand". J. Med. Assoc. Thailand, 55(5): 272-286, 1972.
143. YOUNG, E. y BANGMA, P. J.- "Mites and house dust allergy". Acta Allergol., 25(1): 25-36, 1970.
144. YOUNG, E. y BANGMA, P. J.- "Is a mite the producer of the house dust allergen?". Dermatologica (Basel), 142(1): 23-28, 1971.
145. ZUIDEMA, P.; SPIEKSMAN, F. Th. M. y LEUPEN, I. M.J.- "House dust allergen in the high Alps". Med. Tijdschr. Geneesk., 114(25): 1042-1047, 1970.