

ETUDE DE LA RETENTION DES ALLERGENES D'ACARIENS PAR LES HOUSSES INTEGRALES IMMUNOCTEM

J Barbara, F Leynadier

Laboratoire Universitaire de Recherche en Immuno-Allergologie (Université Paris 6)
Centre d'Allergologie, Hôpital Tenon (AP-HP), Paris

INTRODUCTION

Les acariens sont des petits arachnides (0,3 mm de long) de la famille des *Acaridae*. Leur durée de vie est d'environ six semaines mais ils se reproduisent très rapidement lorsque les conditions leur sont favorables (hygrométrie 65-75% et température 20-30°C). Ils se nourrissent de débris de phanères humains et animaux. Les acariens de la poussière de maison (*Dermatophagoïdes pteronyssinus* (DP) et *D. farinae* principalement) colonisent ainsi nos maisons. On les retrouve principalement dans la literie, la moquette mais aussi les tapis, les rideaux, les peluches [1, 2]. Les débris d'acariens morts et leurs déjections sont responsables des manifestations allergiques. Leur inhalation peut provoquer des symptômes de type respiratoire (rhinite, asthme). Leur contact avec la peau peut aggraver les dermatites atopiques. On observe un pic d'intensité des symptômes à l'automne, qui dure pendant l'hiver car, à ces périodes, nos habitations sont moins aérées et plus chauffées. Les acariens ne survivent pas quand l'air est trop sec et quand ils sont exposés à de fortes températures (60°C). D'une manière générale, le meilleur moyen d'empêcher l'apparition de réactions chez l'individu allergique reste l'éviction des allergènes responsables. Ainsi pour les acariens, de nombreux produits existent déjà sur le marché : housses de matelas et oreillers anti-acariens, produits acaricides, etc... Ils permettent de réduire le contact entre le patient et les sources potentielles d'allergènes d'acariens. Pour beaucoup de ces produits commercialisés, l'éviction est réalisée grâce à des substances tuant les acariens (acaricides).

Le tissu des housses intégrales IMMUNOCTEM est en polycoton (50% coton, 50% polyester) enduit sur une face d'une fine couche de polyuréthane microporeuse. De part les propriétés de cette dernière, ce tissu constituerait une barrière physique contre le passage vers

l'extérieur des allergènes d'acariens présents dans les matelas, couettes et oreillers. Il ne nécessite donc pas l'imprégnation préalable de produits acaricides.

BUT DU TRAVAIL

Déterminer l'efficacité de la rétention des allergènes d'acariens par le tissu utilisé pour la fabrication des housses intégrales IMMUNOCTEM.

MATERIEL ET METHODES

1. Source d'acariens

La source d'acariens utilisée était de la poussière recueillie sur toutes les faces d'un matelas et sur le dessus d'un sommier de tapissier. Celle-ci a été collectée au moyen d'un aspirateur à traîneau selon la méthode préconisée par le Consensus International, soit une aspiration de chaque article pendant au moins 2 minutes/m² à puissance maximale. Le dosage par Acarex Test[®] (Dyn'R, Muret, France) montrait un taux d'acariens correspondant au maximum indiqué sur l'échelle colorimétrique fournie par le fabricant. Un échantillon de cette poussière (100 mg) a ensuite été incubé dans 10 ml de PBS (phosphate buffered saline) 0,1 M pH 7,4 (Sigma, Saint-Louis, MO, USA) pendant 2 h à température ambiante puis centrifugé à 2000g pendant 20 min à +4°C. Les dosages de protéines totales (méthode de Lowry modifiée), de DP (ELISA lapin anti-DP) et d'allergènes (ELISA hIgE-inhibition) ont été effectués sur le surnageant selon les méthodes décrites dans les paragraphes ci-dessous. Les teneurs obtenues étaient les suivantes : protéines totales, 18600 µg/g de poussière ; DP, 46,6 µg/g de poussière et allergènes d'acariens, 11,8 µg/g de poussière.

2. Essais

Les essais ont été réalisés selon une méthode adaptée d'une étude précédente [3]. Un gramme de poussière de maison a été déposé dans un nébuliseur (Airlife[™] Misty-Neb[™], Baxter S.A., Maurepas, France) puis pulvérisé pendant 10 min dans une chambre étanche au moyen d'un compresseur (Econoneb Medix, Mediflux, Bry-sur-Marne, France) débitant 8 l d'air/min.

Durant la pulvérisation, l'air de la chambre était aspiré grâce à un système constitué d'un flacon laveur relié à une source de vide réglée à -100 mbar (voir schéma du circuit en Annexe 1). Le flacon laveur contenait 10 ml de PBS permettant de récolter la poussière aspirée. Après chaque essai, la solution du flacon laveur a été centrifugée à 2000g pendant 20 min à +4°C. Le culot constitué de la poussière non dissoute dans la solution aqueuse a été pesé après dessiccation à l'étuve. Le surnageant a été aliquoté puis stocké à -20°C pour les dosages ultérieurs de protéines totales (méthode de Lowry modifiée), de DP (ELISA lapin anti-DP) et des allergènes d'acariens (ELISA hIgE-inhibition).

La totalité de la poussière déposée au départ dans le nébuliseur n'étant pas totalement pulvérisée durant les 10 min, une série d'essais préliminaire a été réalisée dans les conditions expérimentales de l'étude. A l'issue de la pulvérisation, la poussière restante dans le nébuliseur a été pesée afin de déterminer la quantité pulvérisée : en moyenne, 222 mg de poussière avaient été pulvérisés soit 22,2% de la quantité déposée au départ.

Les essais ont été réalisés en trois séries :

- 5 essais en absence de tout tissu : cette série constitue le témoin positif car elle permet de déterminer la quantité de poussière à laquelle étaient potentiellement soumis les tissus.
- 8 essais en présence d'un carré de drap-housse classique en 100% coton, acheté dans le commerce, neuf et n'ayant subi aucun lavage.
- 8 essais en présence d'un carré de tissu IMMUNOCTEM, neuf et n'ayant subi aucun lavage, placé avec la face enduite de polyuréthane (la face en contact avec le matelas) vers la chambre de pulvérisation.

Pour les deux dernières séries d'essais, les pièces de tissu étaient placées sur un support cylindrique, de façon étanche, à l'entrée du circuit d'aspiration. Le tissu offrait ainsi une surface de contact avec la poussière de 11,34 cm². Pour la première série, ce support était placé de la même façon en absence de tissu (voir schéma en Annexe 1).

3. Dosage des protéines totales par la méthode de Lowry modifiée

Le dosage des protéines totales des solutions recueillies dans le flacon laveur à l'issue des essais a été réalisé par la méthode de Lowry modifiée. La méthode utilisée est celle décrite dans la norme européenne EN 455-3 pour la détermination des protéines totales dans les gants médicaux en latex naturel [4].

La détermination de la quantité de protéines dans les échantillons est réalisée grâce à une méthode biochimique colorimétrique. L'intensité de la coloration obtenue pour l'échantillon est directement proportionnelle à la quantité de protéines présentes. Celle-ci est comparée à une gamme étalon constituée de concentrations d'ovalbumine (Sigma, grade V) connues. La limite de détection de la méthode était de 2 µg/ml.

Chaque échantillon et point de gamme (1 ml) a préalablement subi une triple précipitation acide en ajoutant successivement de l'acide déoxycholique 0,15%, de l'acide trichloroacétique 72% et de l'acide phosphotungstique 72% (Sigma). Cette étape a permis de concentrer les protéines présentes dans les échantillons. Après centrifugation à 2000g pendant 20 min à +4°C, le culot protéique a été dissous dans 0,2 ml de NaOH 0,1 M.

Le dosage des protéines totales a été réalisé grâce à un kit commercialisé (DC Protein Assay kit, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). La lecture des densités optiques (DO) a été effectuée à 630 nm grâce à un lecteur de microplaques (MRX, Dynex, Issy-les-Moulineaux, France).

4. Dosage de DP par ELISA (ELISA lapin anti-DP)

Le principe de l'ELISA lapin anti-DP repose sur la compétition entre les allergènes d'acariens présents dans l'échantillon à doser et ceux de l'extrait de référence adsorbés sur un support solide (parois des puits d'une microplaque) pour la fixation d'une quantité constante et déterminée d'anticorps de lapin anti-DP.

L'extrait de référence utilisé était un lyophilisat de DP standardisé (Alyostal *D. pteronyssinus*, Stallergènes, Antony, France) contenant 20 µg/ml de Der p 1 et 4 µg/ml de Der p 2, soit 24 µg/ml des 2 principaux allergènes de DP.

La quantité de DP dans les échantillons est déterminée par rapport à une gamme étalon de concentrations connues de l'extrait de référence de DP. La limite de détection de la méthode était de 0,005 µg/ml.

La microplaque (Maxisorp® NUNC, Roskilde, Danemark) a été préparée en déposant 100 µl d'extrait de référence dilués à 2,4 µg/ml dans du tampon carbonate-bicarbonate 0,1 M pH 9,6 dans tous les puits. Après incubation pendant une nuit à +4°C, les sites actifs libres ont été saturés avec 200 µl/puits de tampon de saturation : PBS 0,1 M pH 7,4 + bovine serum albumine (BSA) 1%. Après une nouvelle incubation d'une nuit à +4°C, la microplaque a été lavée avec du tampon de lavage (PBS + Tween 20 0,05%). La plaque était alors prête à l'emploi.

Toutes les dilutions ont été réalisées dans du tampon EIA (PBS + BSA 0,1% + Tween 20 0,05%). Un volume de 50 µl des extraits à doser et des points de la gamme étalon ont été déposés dans les puits, suivi par un dépôt du même volume d'anticorps de lapin anti-DP (Allerbio, Varennes-en-Argonne, France), dilués au 1/1000. Après incubation d'une nuit à +4°C suivie de 4 lavages, la révélation a été effectuée après dépôt de 100 µl/puits d'anticorps monoclonaux de souris anti-IgG de lapin marqués à la peroxydase (Sigma), dilués au 1/10000. Après incubation d'une heure à 37°C suivie de 4 lavages, 200 µl/puits de substrat chromogène (OPD, Sigma) ont été déposés. La lecture des DO a été effectuée grâce à un lecteur de microplaques (MRX) à 405 nm après 1 h d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière.

5. Dosage des allergènes d'acariens par ELISA hIgE-inhibition

L'ELISA hIgE-inhibition repose sur le même principe que l'inhibition du RAST où l'allergène de l'échantillon à doser inhibe la fixation des IgE humaines spécifiques sur l'allergène adsorbé sur un support solide.

Dans la présente méthode, les allergènes d'acariens présents dans l'échantillon à doser sont en compétition avec les allergènes d'acariens de l'extrait de référence adsorbés sur les parois des puits de la microplaque, pour la fixation des IgE humaines anti-acariens. L'allergène de référence était ici le même que celui utilisé précédemment pour l'ELISA lapin anti-DP. Les IgE humaines provenaient d'un pool réparti en aliquotes conservés à -80°C, constitué avec les résidus de sérums de 29 patients du service de consultation du Centre d'Allergologie et dont l'allergie aux acariens avait été clairement documentée. La concentration en IgE anti-DP (d1) de ces 29 sérums, déterminée par ImmunoCAP System® (Pharmacia, Uppsala, Suède), était comprise entre 12,70 kUI/l et >100 kUI/l. Le dosage du pool par ImmunoCAP System® a révélé une concentration en IgE anti-DP de 75,10 kUI/l.

La quantité d'allergènes des échantillons à doser est déterminée par rapport à une gamme étalon de concentrations connues de l'extrait de référence. La limite de détection de la méthode était de 0,006 µg/ml.

La microplaque a été préparée de la même façon que celle précédemment décrite pour l'ELISA lapin anti-DP. Toutes les dilutions ont été réalisées dans du tampon EIA.

Les extraits à doser et les points de la gamme étalon (50 µl) ont été déposés dans les puits, suivi par un dépôt du même volume du pool de sérums riche en IgE anti-d1 dilué au 1/5.

Après incubation d'une nuit à +4°C suivie de 4 lavages, 100 µl d'anti-IgE humaines marquées à la peroxydase (Sigma) diluées au 1/2000 ont été déposées dans tous les puits sauf le blanc (100 µl EIA). Après incubation d'une heure à 37°C et 4 lavages, 200 µl de substrat chromogène (OPD) ont été déposés dans tous les puits. La lecture des DO a été effectuée à 405 nm grâce à un lecteur de microplaques (MRX) après incubation pendant 50 min à température ambiante et à l'abri de la lumière.

6. Tests statistiques

Tous les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SD (standard deviation). Pour les besoins des calculs, la valeur du seuil de détection a été arbitrairement assignée aux résultats inférieurs aux limites de détection des différentes méthodes de dosage. Les corrélations entre les quantités de poussière, de protéines totales, de DP et d'allergènes d'acariens ont été calculées grâce au test non paramétrique de Spearman. Les différences entre les 3 séries d'essais ont été calculées par le test non paramétrique de Mann-Whitney pour séries non appariées. Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

1. Poussière récoltée

La poussière récoltée dans le flacon laveur après chaque essai a été séchée puis pesée. Les résultats sont présentés en Annexe 2.

En absence de tout tissu à l'entrée du circuit d'aspiration la quantité moyenne de poussière récoltée était de $26,2 \pm 2,9$ mg. La surface de tissu testée étant de $11,34 \text{ cm}^2$, le drap-housse classique en coton et le tissu IMMUNOCTEM ont donc été soumis à une quantité moyenne de poussière de $2,31 \text{ mg/cm}^2$.

En plaçant un carré de drap-housse en coton, la quantité moyenne de poussière récoltée n'était plus que de $1,5 \pm 0,5$ mg. Comparée à la série d'essais réalisée sans tissu, la quantité de poussière ayant traversé le drap-housse en coton était significativement inférieure ($p = 0,003$). Le drap-housse en coton a néanmoins laissé passer en moyenne 5,7% de la poussière.

Par contre en présence du tissu IMMUNOCTEM, aucun culot n'était visible à l'issue de chacun des 8 essais pratiqués.

2. Protéines totales

La quantité de protéines totales a été déterminée dans le surnageant après chaque essai. Les résultats figurent en Annexe 2.

En absence de tout tissu, le système d'aspiration a recueilli en moyenne $681 \pm 86 \mu\text{g}$ de protéines contenues dans la poussière. Le drap-housse en coton et le tissu IMMUNOCTEM ont donc été soumis à une quantité moyenne de protéines totales de $60 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

En plaçant un carré de drap-housse en coton, $79 \pm 28 \mu\text{g}$ de protéines ont été retrouvées dans la solution aqueuse. Comparée à la série d'essais en absence de tout tissu, la quantité de protéines totales récupérée était significativement inférieure ($p = 0,003$). Mais le drap-housse en coton a tout de même laissé passer 11,6% des protéines contenues dans la poussière.

Inversement, la quantité de protéines dans la solution était inférieure à la limite de détection ($< 20 \mu\text{g}$) pour les 8 essais réalisés en présence du tissu IMMUNOCTEM. La différence était très significative comparé aux deux autres séries d'essais (respectivement, $p < 0,001$ et $p = 0,003$, comparé à la série avec drap-housse en coton et à la série en absence de tissu).

3. Détermination de DP par ELISA lapin anti-DP

La quantité de DP a été déterminée dans le surnageant après chaque essai. Les résultats figurent en Annexe 2.

En absence de tout tissu, la quantité moyenne de DP récoltée dans le flacon laveur était de $0,46 \pm 0,22 \mu\text{g}$. Le drap-housse en coton et le tissu IMMUNOCTEM ont donc été soumis à une quantité moyenne de DP de $0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

En présence du drap-housse en coton, la quantité de DP récupérée était de $0,07 \pm 0,02 \mu\text{g}$. Dans 3 essais sur les 8 réalisés, celle-ci était inférieure à la limite de détection ($< 0,05 \mu\text{g}$). La quantité de DP récupérée était significativement inférieure à celle de la série pratiquée sans tissu ($p = 0,003$). Malgré tout, le drap-housse en coton a laissé passer en moyenne 15,2% des acariens présents dans la poussière de maison. Dans de telles conditions, un matelas standard pour une personne (90 x 190 cm), avec, pour seule protection le drap-housse en coton, laisserait passer un total de $106 \mu\text{g}$ de DP.

En présence d'un carré de tissu IMMUNOCTEM, la quantité de DP récupérée dans le flacon laveur était inférieure à la limite de détection ($< 0,05 \mu\text{g}$) pour les 8 essais réalisés. Comparée

aux deux autres séries d'essais, la différence était significative (respectivement $p = 0,04$ et $p = 0,003$ comparé à la série avec drap-housse en coton et à la série en absence de tissu).

4. Détermination des allergènes d'acariens par ELISA hIgE-inhibition

La quantité d'allergènes d'acariens a été déterminée dans le surnageant après chaque essai. Les résultats figurent en Annexe 2.

Lors des essais pratiqués en absence de tout tissu, la quantité moyenne d'allergènes d'acariens recueillie dans le flacon laveur était de $1,27 \pm 0,32 \mu\text{g}$. Le drap-housse en coton et le tissu IMMUNOCTEM ont donc été soumis à une quantité moyenne d'allergènes d'acariens de $0,11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Pour la série réalisée en présence du drap-housse en coton, les allergènes n'étaient pas détectables dans 2 essais sur 8. La quantité moyenne d'allergènes ayant traversé le drap-housse en coton était de $0,16 \pm 0,12 \mu\text{g}$. La quantité moyenne d'allergènes d'acariens était significativement inférieure à celle de la série en absence de tissu ($p = 0,003$). Néanmoins, le drap-housse en coton a laissé passer en moyenne 12,6 % des allergènes d'acariens. Si l'on rapporte cette quantité à l'échelle d'un matelas standard pour une personne (90 x 190 cm), le drap-housse en coton, laisserait passer un total de 241 μg d'allergènes.

Par contre, en présence d'un carré de tissu IMMUNOCTEM, les allergènes d'acariens n'étaient pas détectables ($< 0,06 \mu\text{g}$) dans les 8 essais pratiqués. La différence était très significative comparée aux deux autres séries d'essais (respectivement, $p = 0,01$ et $p = 0,003$, comparée à la série avec drap-housse en coton et à la série en absence de tissu).

5. Corrélations

La corrélation entre les quantités de poussière récoltée, les teneurs en protéines totales, en DP et en allergènes a été calculée grâce au test non paramétrique de Spearman (voir tableau en Annexe 3). Seuls les résultats des séries en absence de drap et en présence du drap-housse en coton ont été pris en compte ($n = 13$) car les valeurs de la série en présence du tissu IMMUNOCTEM étaient inférieures aux limites de détection.

Les corrélations étaient élevées (R compris entre 0,765 et 0,846) et statistiquement significatives (p compris entre 0,003 et 0,008).

DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons testé la capacité de rétention des allergènes d'acariens par le tissu IMMUNOCTEM. Les résultats ont montré que ce tissu ne laissait pas passer les allergènes d'acariens présents dans la poussière. Par comparaison, le drap-housse en coton avait laissé passer 11,6% des protéines totales, 15,2% de DP et 12,6% des allergènes d'acariens.

Une étude réalisée au Forschungsinstitut Hohenstein (Bönnigheim, Allemagne) avait montré que le tissu IMMUNOCTEM possédait une bonne perméabilité à la vapeur d'eau ($R_{et} < 10 \text{ mPa/W}$) indiquant donc une bonne respirabilité (données IMMUNOCTEM). Une deuxième étude réalisée par le laboratoire CENTEXBEL (Verviers, Belgique) avait permis de déterminer un diamètre moyen des pores du tissu de $5 \mu\text{m}$. De plus, malgré une distribution non homogène de la taille des pores, celui-ci retenait efficacement les particules de petite taille ($94,28 \pm 3,13\%$ pour les particules de $0,3 \mu\text{m}$) et la quantité de particules $> 2 \mu\text{m}$ traversant le tissu était trop faible pour donner un résultat fiable (données IMMUNOCTEM). Or, les allergènes d'acariens sont véhiculés principalement par des particules de relativement grande taille ($10\text{-}30 \mu\text{m}$) et peu volatiles [5]. Il a été montré par ailleurs que les tissus dont le diamètre des pores était $< 10 \mu\text{m}$ ne laissait pas passer les allergènes Der p 1 et Der f 1 [6]. Cela explique sans doute l'efficacité du tissu en tant que barrière physique à empêcher le passage des allergènes d'acariens.

Dans les conditions expérimentales de l'étude, en moyenne, 22,2% de la poussière déposée au départ dans le nébuliseur était pulvérisée dans la chambre étanche (soit 222 mg sur 1 g au départ). Une série d'essais en absence de tout tissu a été réalisée afin d'estimer la quantité de poussière à laquelle les tissus testés seraient soumis. Cette série, servant donc de témoin positif à l'étude, a montré une bonne reproductibilité puisque la quantité de poussière récoltée dans ces conditions était peu variable ($26,2 \pm 2,9 \text{ mg}$, coefficient de variation 0,11). La quantité de poussière récoltée dans le flacon laveur ne représentait ainsi que 11,8% de celle effectivement pulvérisée dans la chambre étanche. En effet, à l'issue de la pulvérisation, une quantité non négligeable de poussière était retrouvée dans la chambre ; de plus, des particules de poussière se retrouvaient impactées sur les parois du support du tissu et sur la tubulure du système d'aspiration en amont du flacon laveur. La poussière utilisée ici comme source d'acariens présente une hétérogénéité au niveau de la répartition de la taille des particules, ce

qui peut induire une erreur dans les quantités d'acariens récupérées. Malgré cela, nous avons pensé que tester le tissu IMMUNOCTEM avec de la poussière brute comme source d'acariens serait plus proche des conditions réelles d'utilisation de la housse, plutôt qu'avec un extrait purifié d'acariens par exemple.

Dans les séries réalisées en absence de tout tissu et en présence du drap-housse en coton, la quantité moyenne d'allergènes détectés (déterminée par ELISA hIgE-inhibition) apparaissait plus élevée que la quantité de DP détectés (déterminée par ELISA lapin anti-DP). Cette différence provient du fait de la nature de l'extrait d'acariens de référence et de l'anticorps utilisés pour chaque méthode. En effet, l'extrait de référence utilisé pour l'ELISA lapin anti-DP et l'hIgE-inhibition était un lyophilisat de DP contenant ses deux principaux allergènes (Der p 1 et Der p 2). L'anticorps de lapin utilisé pour l'ELISA lapin anti-DP est spécifique de ces deux allergènes. En revanche, le pool de sérums utilisé pour l'hIgE-inhibition contient certainement des IgE dirigés contre d'autres allergènes d'acariens. Les teneurs en allergènes Der p 1 et Der p 2 déterminées par hIgE-inhibition ont donc été probablement surestimées du fait de la reconnaissance d'autres allergènes d'acariens comme Der f 1 ou Der f 2 par exemple, présents dans les échantillons de poussière récoltés lors des essais.

La plupart des études cliniques réalisées jusqu'ici, ne montrent pas ou peu d'amélioration significative de la santé du patient allergique après la mise en place de mesures physiques et/ou chimiques d'éviction des acariens [7]. Dans ces études, le biais principal réside dans le fait que ces méthodes sont souvent testées individuellement. Or, l'éviction n'est efficace que par la combinaison de plusieurs mesures [8, 9], comme le préconise le Consensus International [10-12].

CONCLUSION

Dans cette étude, nous avons montré que le tissu utilisé pour la confection de housses intégrales IMMUNOCTEM pour matelas, couettes et oreillers retenait efficacement les allergènes d'acariens.

Les housses intégrales IMMUNOCTEM peuvent donc contribuer efficacement à l'ensemble des mesures d'éviction des allergènes d'acariens, notamment par l'isolement du matelas, de la couette et des oreillers vis-à-vis du patient allergique.

La pertinence de ces résultats doit être complétée par une étude *in vivo* sur un modèle animal (cobaye) préalablement sensibilisé aux allergènes d'acariens. L'exposition de l'animal aux allergènes en présence du tissu de housses IMMUNOCTEM permettra d'évaluer directement son effet protecteur vis-à-vis de l'apparition de réactions de type allergique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bierman CW. Environmental control of asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 1996;16:753-64.
2. Pauli G, de Blay F, J.C. B, Ott M, Gries P. The role of mattress bases in the mite infestation of dwellings. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:261-3.
3. Barbara J, Chabane MH, Leynadier F, Girard F. Retention of airborne latex particles by a bacterial and viral filter used in anaesthesia. *Anaesthesia* 2001;56:231-4.
4. CEN. Medical gloves for single use. Part 3: Requirements and testing for biological evaluation. Brussels: European Committee for Standardization,2000;EN 455-3.
5. Eggleston PA. Improving indoor environments : Reducing allergen exposures. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:122-6.
6. Vaughan JW, McLaughlin E, Perzanowski MS, Platts-Mills TAE. Evaluation of materials used for bedding encasement : effect of pore size in blocking cat and dust mite allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:227-31.
7. Gotzsche PC, Johansen HK, Schmidt LM, Burr ML. House dust mite control measures for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;18(4):CD001187.
8. German JA, Harper MB. Environmental control of allergic diseases. *Am Fam Physician* 2002;66(3):421-6.
9. de Blay F, Casel S, Colas F, Spirlet F, Pauli G. Eviction des pneumallergènes de l'environnement domestique. *Rev Mal Respir* 2000;17:29-39.
10. National Asthma Education Program. Expert Panel on the Management of Asthma. Expert Panel report 2 : guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda, Md: National Institute of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute,1997;NIH publication no. 97-4051.
11. Ad Hoc Working Group on Environmental Allergens and Asthma. Position Statement. Environmental allergen avoidance in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103(2 pt 1):203-5.
12. Arlian LG, Platts-Mills TAE. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(3):S406-13.

Annexe 1

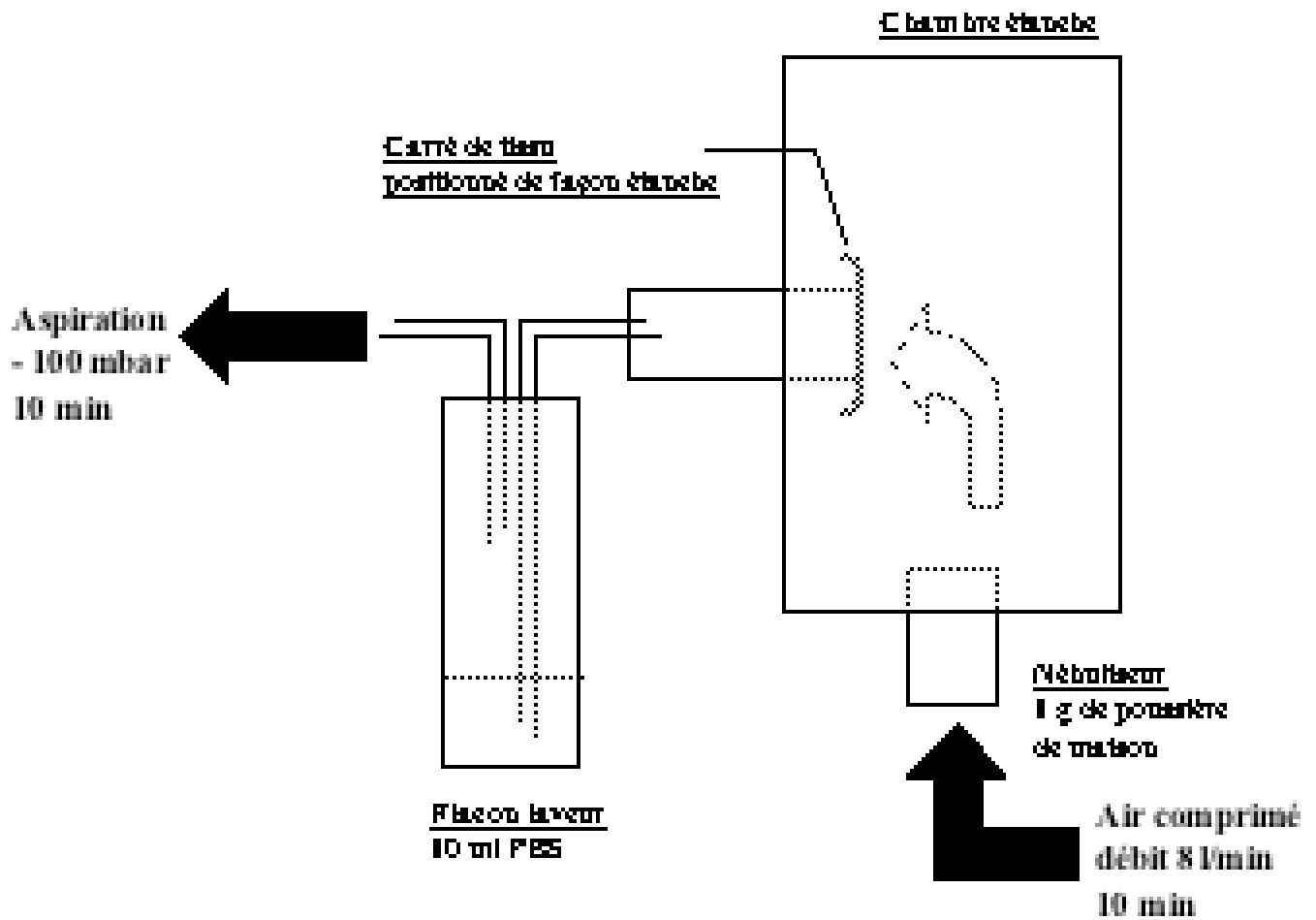


Schéma du système de nébulisation et du circuit d'aspiration de la poussière de maison.

Annexe 2

Tableau récapitulatif des résultats de dosage des protéines totales, de DP et des allergènes d'acariens pratiqués sur les échantillons de l'étude.

Essais	Quantité de poussière récoltée (mg)	Protéines totales (µg)	DP (µg)	Allergènes acariens (µg)
Essais en absence de tout tissu				
ST1	24,8	649	0,28	1,05
ST2	27,1	655	0,30	1,58
ST3	21,8	566	0,31	0,84
ST4	28,3	771	0,70	1,51
ST5	28,8	762	0,70	1,38
Moyenne	26,2	681	0,46	1,27
SD	2,9	86	0,22	0,32
Essais avec drap-housse classique en coton				
DC1	2,0	79	< 0,05	0,13
DC2	1,0	123	< 0,05	0,07
DC3	0,7	99	0,09	0,26
DC4	1,2	42	< 0,05	0,09
DC5	2,1	107	0,10	0,40
DC5	1,8	71	0,08	0,20
DC7	1,8	56	0,08	< 0,06
DC8	1,4	56	0,08	< 0,06
Moyenne	1,5*	79*	0,07*	0,16*
SD	0,5	28	0,02	0,12
Essais avec tissu IMMUNOCTEM				
HI1	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI2	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI3	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI4	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI5	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI6	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI7	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
HI8	nd	< 20	< 0,05	< 0,06
Moyenne	nd	< 20* ###	< 0,05* #	< 0,06* ##
SD				

nd : non détecté.

*p = 0,003 comparée à la série en absence de tout tissu.

#p = 0,04, ##p = 0,01 et ###p < 0,001 comparée à la série avec le drap-housse classique en coton.

Annexe 3

Tableau des corrélations déterminées par le test non paramétrique de Spearman, entre les quantités de poussière récupérées, les teneurs en protéines totales, en DP et en allergènes des échantillons (n = 13).

	Poussière	Protéines totales	DP
Protéines totales	R = 0,765 p = 0,008		
DP	R = 0,808 p = 0,005	R = 0,813 p = 0,005	
Allergènes acariens	R = 0,801 p = 0,006	R = 0,868 p = 0,003	R = 0,846 p = 0,003