

## The phylogenetic relationship of *Glyciphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* and *Acaridae* mites families according to the sequence of their main allergens

### Relación filogenética de ácaros *Glyciphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* y *Acaridae*, según la secuencia de sus alérgenos

Andrés Sánchez,<sup>1</sup> Jorge Sánchez,<sup>1</sup> Marlon Munera,<sup>2</sup> Ricardo Cardona<sup>1</sup>

#### Abstract

**Background:** Mites are the main cause of atopy and allergies in the Tropical region. It is necessary to know the phylogenetic relationship of their allergenic proteins in order to determine the best combination of extracts for its use at the clinic.

**Objective:** To assess the phylogenetic relationship between the main allergenic proteins of mites.

**Methods:** Groups 1, 2 and 5 of *Glyciphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* and *Acaridae* families were compared according to the sequence of mRNA and amino acids with the validated sequences of the National Center for Biotechnology Information and through bioinformatic alignment analyses for the construction of the trees, the method of neighbor-joining, with bootstrap support with 500 replications, was used as a measure of reliability and robustness.

**Results:** 15% to 87% of identity was found in the three groups of allergens; the highest was between Der p2 and Der f2 (86.98%) and, the lowest, between Der f 5 and Gly d 5 (17.87%) *Piroglyphidae* showed the highest relationship between the species. The longest branching distance was identified in *Glyciphagidae*, especially in *Blomia tropicalis*.

**Conclusion:** Some allergenic proteins have a high identity between the different species of mites, unlike *Blomia tropicalis*. These results can be taken into consideration when the diagnosis and treatment of allergic diseases is being defined.

**Keywords:** Mites; Allergen; Sensitization; Allergy; Atopy

Este artículo debe citarse como: Sánchez A, Sánchez J, Munera M, Cardona R. Relación filogenética de ácaros *Glyciphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* y *Acaridae*, según la secuencia de sus principales alérgenos. Rev Alerg Mex. 2019;66(2):163-177

#### ORCID

Andrés Sánchez, 0000-0001-7460-3427; Jorge Sánchez, 0000-0001-6341-783X;  
Marlon Munera, 0000-0003-3428-0541; Ricardo Cardona, 0000-0002-7428-2413

<sup>1</sup>Universidad de Antioquia, Grupo de Alergología Clínica y Experimental, Medellín, Colombia

<sup>2</sup>Corporación Universitaria Rafael Núñez, Bolívar, Colombia

Correspondencia: Jorge Sánchez.  
jorgem.sanchez@udea.edu.co

Recibido: 2018-01-08  
Aceptado: 2018-02-13  
DOI: 10.29262/ram.v66i2.346



## Resumen

**Antecedentes:** Los ácaros son la principal causa de atopía y alergias en la región del trópico. Es necesario conocer la relación filogenética de sus proteínas alergénicas para determinar la mejor combinación de extractos para su empleo en la clínica.

**Objetivo:** Evaluar la relación filogenética entre las principales proteínas alergénicas de los ácaros.

**Método:** Se compararon los grupos 1, 2 y 5 de las familias *Glyciphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* y *Acaridae* de acuerdo con la secuencia de ARNm y aminoácidos con las secuencias validadas en el National Center for Biotechnology Information y mediante análisis bioinformáticos de alineamiento. Para la construcción de los árboles se utilizó el método de *neighbor-joining*, con soporte por bootstrap con 500 replicaciones como medida de fiabilidad y robustez.

**Resultados:** Se encontró 15 a 87 % de identidad en los tres grupos de alérgenos; la más alta entre Der p 2 y Der f 2 (86.98 %) y la menor entre Der f 5 y Gly d 5 (17.87 %) *Piroglyphidae* presentó la mayor relación entre las especies. En *Glyciphagidae*, especialmente en *Blomia tropicalis*, se identificó la mayor distancia de ramificación.

**Conclusión:** Algunas proteínas alergénicas tienen alta identidad entre las diferentes especies de ácaros, no así *Blomia tropicalis*. Estos resultados pueden considerarse al definir el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas.

**Palabras clave:** Ácaros; Alérgeno; Sensibilización; Alergia; Atopia

## Abreviaturas y siglas

NCBI, National Center for Biotechnology Information

## Antecedentes

Las alergias conforman un grupo de enfermedades frecuentes que resultan de interacciones entre la constitución genética de cada individuo y la exposición a factores ambientales que intervienen en su desarrollo. Aunque pueden presentarse a cualquier edad, su inicio suele ser en la infancia y su prevalencia parece estar en aumento en los países en desarrollo, especialmente los ubicados en el trópico.<sup>1,2</sup>

La atopía es un factor de riesgo indispensable para el desarrollo de alergias mediadas por sensibilización a la inmunoglobulina E (IgE)<sup>3,4</sup> y está fuertemente asociada con el asma, la rinitis y la conjuntivitis.<sup>5,6</sup> Actualmente, la evaluación de atopía se hace utilizando extractos proteicos de las fuentes sospechosas a las que se expone el paciente, para evaluar la presencia de la IgE específica.<sup>7,8</sup> En los países del trópico, los ácaros son la principal causa de atopía;<sup>9,10</sup> los mayormente reportados son *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* y *Blomia tropicalis*.<sup>11,12,13,14</sup>

Los estudios epidemiológicos han mostrado que no todas las poblaciones están expuestas a los diferentes ácaros en la misma proporción,<sup>6,7</sup> sin embargo, debido a la reactividad cruzada entre algunas proteínas, las personas que tienen una sensibilización IgE a proteínas que se mantienen conservadas entre diferentes especies, pueden presentar síntomas con fuentes a las que no están expuestos si estas presentan estas proteínas.<sup>15</sup> Usualmente esto ocurre entre proteínas filogenéticamente conservadas con alta identidad que reciben el nombre de “panalérgenos” y están presentes en fuentes ancestralmente relacionadas. Estas proteínas explican porque más de 97 % de los pacientes alérgicos a *Dermatophagoides pteronyssinus* también lo están a *Dermatophagoides farinae* (y viceversa), ya que ambos pertenecen al mismo género taxonómico y sus proteínas son similares.<sup>11,12</sup> Aunque una alta cosensibilización entre los ácaros de una misma familia es lo esperado, esto no siempre ocurre: aunque *Blomia tropicalis* ha sido clasificado como un ácaro de la familia *Glyciphagidae*, la

frecuencia de sensibilización a otros ácaros de esta familia como *Lepidoglyphus destructor* o *Glycyphagus domesticus* es menor de 30 %, <sup>16</sup> aun cuando son ácaros de amplia distribución.

El conocimiento de la reactividad cruzada entre los diferentes alérgenos puede tener importante impacto clínico, ya que permitiría definir de forma más exacta cuáles extractos se deben usar en el momento de realizar las pruebas de alergia para determinar la atopía del paciente y definir los alérgenos a utilizar si el paciente tiene indicación de inmunoterapia. Teniendo en cuenta estas observaciones y el impacto clínico que pueden tener una identificación adecuada de las fuentes de sensibilización que inducen la alergia, en el presente artículo nos propusimos evaluar la relación filogenética mediante métodos bioinformáticos entre las principales proteínas alérgicas de ácaros de acuerdo con la identidad y la homología de sus principales alérgenos.

### Método

Se trabajó con ocho ácaros de los seleccionados inicialmente, por ser los más frecuentes en el trópico y de mayor importancia en las patologías alérgicas, pertenecientes a las familias *Glycyphagidae*, *Pyroglyphidae*, *Chortoglyphidae* y *Acaridae* y con base en las características morfológicas (cuadro 1). De la familia *Pyroglyphidae* se seleccionaron las tres especies más representativas del género *Dermatophagoides*: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides microceras* y *Dermatophagoides farinae*. En la familia *Glycyphagidae* se seleccionaron dos géneros, incluyendo uno de *Blomia tropicalis*

y *Glycyphagus domesticus*. Para *Chortoglyphidae* también se incluyeron dos especies de géneros diferentes: *Euroglyphus maynei* y *Chortoglyphus arcuatus*. Por último, para la familia *Acaridae* se escogieron tres especies: *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor* y *Tyrophagus putrescentiae*.

De estos ácaros se seleccionaron los alérgenos pertenecientes a los grupos 1, 2 y 5. En el grupo 1 se encuentran varios alérgenos mayores de los ácaros con una prevalencia de sensibilización entre los pacientes atópicos a los ácaros de 70 a 100 %; estos alérgenos son glicoproteínas con una masa molecular de aproximadamente 25 kDa, pertenecientes a la familia de las cisteín-proteasas, aunque se ha descrito que algunas pertenecen a las proteasas de serina. En el grupo 2 se incluyen alérgenos mayores con una prevalencia de sensibilización de 80 a 100 %, pertenecientes a la familia NPC2 (proteínas secretadas por la epidermis de unión a lípidos), con un peso molecular variable entre 14 y 26 kDa. El grupo 5 son proteínas estructurales, con un peso molecular de 15 kDa y una frecuencia de sensibilización de 20 a 50 %, aunque su función en los ácaros aún no está claramente descrita, sin embargo, en especies como *Blomia tropicalis* es uno de los principales alérgenos con un alto porcentaje de sensibilización.

### Análisis bioinformáticos

Para los alineamientos de los alérgenos de los grupos 1, 2 y 5 de los ácaros se utilizaron secuencias de ARN y aminoácidos. Para comparar la similitud molecular con la prevalencia de sensibilización encontrada por Sánchez et al. <sup>16</sup> se parearon todos los alérgenos encon-

Cuadro 1. Clasificación taxonómica clásica de los ácaros y frecuencia de sensibilización encontrada en población colombiana

Orden	Suborden	Familia	Género	Especie
Acari	Astigmata	Acaridae	<i>Acarus</i>	Aca s (61 %)
			<i>Tyrophagus</i>	Tyr p (59 %)
			<i>Lepidoglyphus</i>	Lep d (67 %)
		Glycyphagidae	<i>Glycyphagus</i>	Gly d (49 %)
			<i>Blomia</i>	Blo t (46 %)
			<i>Dermatophagoides</i>	Der p (73 %) Der f (76 %) Der m (67 %)
		Chortoglyphidae	<i>Euroglyphus</i>	Eur m (69 %)
			<i>Chortoglyphus</i>	Cho a (55 %)

trados en cada grupo. Se utilizaron las secuencias obtenidas a través del programa BLAST, en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), validadas hasta el 14 de septiembre de 2016. Solo se incluyeron las secuencias que se encontraban reportadas en la WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee (<http://www.allergen.org>) y que presentaran una secuencia completa. En las secuencias peptídicas de alineamiento pareado se utilizó el programa CRUSTAL Omega versión 1.2.3, disponible en <http://www.uniprot.org>, el cual implementa el algoritmo Feng y Doolittle modificado por Des Higgins. La base de datos se describe en el cuadro 2.

Para la construcción de los árboles de cada alérgeno se utilizó el programa molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) versión 7, utilizando el método de reconstrucción de *neighbor-joining* con soporte por bootstrap con 500 replicaciones como medida de fiabilidad y robustez, asumiendo mínima evolución en la topología. Este modelo utiliza una matriz comparativa para encontrar la similitud entre nucleótidos (ARN o ADN) o aminoácidos (péptidos) de dos o más secuencias para establecer la proximidad evolutiva entre las especies. Así, entre más valores positivos de identidad se encuentre entre las secuencias, mayor su relación y más próximas en el árbol. Todos los espacios vacíos fueron eliminados (deleciones completas). A partir de la comparación global y las homología se obtuvo la suma de longitud de las ramas que determinan la cantidad de nodos y la posición de los mismos, incluyendo los *clusters* de las secuencias evolutivamente más cercanas. Debido al número de secuencias utilizadas no se realizó subanálisis filogenéticos.

## Resultados

Al buscar las secuencias en las diferentes bases de datos, no se encontraron datos para *Chortoglyphus arcuatus* y *Dermatophagoides microceras*, por lo que estas especies no se incluyeron en el estudio. Además, no se encontraron secuencias de Gly d 1, Aca s 5 y Eur m 5. La secuencia de Lep d 1 reportada por el NCBI es igual a la secuencia Lep d 2 y no se encuentra registrada en [allergome.org](http://allergome.org), por lo tanto, esta secuencia tampoco fue incluida en el estudio.

### Alineamientos de las secuencias del grupo 1

Los porcentajes de identidad del grupo 1 se muestran en el cuadro 3. Existió gran variabilidad en las se-

cuencias (26 a 85 %). El porcentaje de identidad entre Der p 1 y Der f 1 fue de 82.8 % y al compararlas con Eur m 1 se observó una identidad un poco mayor (84.4 y 85.9 %, respectivamente). La relación entre las otras familias fue menor a 40 %. Tyr p 1 en general, presentó menor identidad con las demás proteínas pertenecientes al grupo 1 con los valores más bajos entre Der p 1 y Tyr p 1 (26.3 %) y la mayor identidad con Aca s 1 (36.9 %). Blo t 1 presentó baja identidad con las proteínas de la familia *Pyroglyphidae*, con una identidad promedio de 32.6 %.

### Alineamiento de las secuencias del grupo 2

La proporción de identidad del grupo 2 se muestra en el cuadro 4. Los alineamientos del grupo 2 fueron similares a los del grupo 1. La mayor identidad se presentó entre las especies pertenecientes a la familia *Pyroglyphidae* (Der p 2 y Der f 2), con 86.9 %. El alérgeno Eur m 2 presentó la mayor relación con el género *Dermatophagoides spp.*, al encontrar una identidad bastante alta en los alineamientos de Der p 2 y Eur m 2 (84.2 %) y Der f 2 y Eur m 2 (82.1 %). La identidad de la familia *Pyroglyphidae* con las demás familias presentó valores que oscilaban entre 36 y 41 %. Los valores más bajos se observaron en el alineamiento entre Der p 2 y Lep d 2 (31.9 %), seguido de Gly d 2 y Eur m 2 (32.1 %). Los alérgenos de las especies de la familia *Glycyphagidae*, Blo t y Gly d, presentaron una identidad de 36.1 %, mientras que la identidad de Blo t 2 fue más alta con los miembros de la familia *Acaridae* en los alineamientos Blo t 2 y Tyr p 2 (50.7 %), Blo t 2 y Lep d 2 (51.40 %) y Blo t 2 y Aca s 2 (44 %).

### Alineamientos de las secuencias del grupo 5

Los porcentajes de identidad de los alérgenos del grupo 5 se muestran en el cuadro 5. Para este grupo de proteínas se presentaron valores mucho más bajos en comparación con los otros dos alérgenos, oscilando entre 17 y 76 %. El alineamiento entre las especies del género *Dermatophagoides* fue nuevamente el que presentó identidad más alta, con 76.51 %. Los datos más bajos se presentaron en el alineamiento de esta familia con Gly d 5, donde los valores fueron de 17.89 % entre Der f 5 y Gly d 5 y de 18.43 % entre Der p 5 y Gly d 5. El otro miembro de la familia *Glycyphagidae*, *Blomia tropicalis*, presentó un valor alto al parearlo con *Tyrophagus putrescentiae* (51.11 %) y con las especies de la familia *Pyro-*

Cuadro 2. Base de los diferentes ácaros y sus alérgenos utilizados en los alineamientos					
Ácaros/alérgenos	Entrada Uniprot	Código	Base de ARNm (GeneBank)	Base de aminoácidos EMBL	Numero de aminoácidos
<i>Pyroglyphagidae</i>					
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>					
Der p 1	P08176	PEPT1_DERPT	U11695	AAB60215.1	320
Der p 2	P49278	ALL2_DERPT	AF276239	AAF86462.1	146
Der p 5	P14004	ALL5_DERPT	S76337	AAB32841.1	132
<i>Dermatophagoides farinae</i>					
Der f 1	P16311	PEPT1_DERFA	X65196	CAA46316.1	321
Der f 2	Q00855	ALL2_DERFA	D10447	BAA01239.1	146
Der f 5	Q3LHF8	Q3LHF8_DERFA	AB195581	BAE45865.1	132
<i>Glycyphagidae</i>					
<i>Blomia tropicalis</i>					
Blo t 1	A1KXI0	A1KXI0_BLOTA	AY291322	AAQ24541.1	333
Blo t 2	A6XEN8	A6XEN8_BLOTA	DQ677253	ABG76185.1	142
Blo t 5	O96870	ALL5_BLOTA	U59102	AAD10850.1	134
<i>Glycyphagus domesticus</i>					
Gly d 1	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
Gly d 2	Q9U5P7	ALL21_GLYDO	AJ249864	CAB59976.1	128
Gly d 5	Q1M2M7	Q1M2M7_GLYDO	AY288675	AAQ54605.1	255
<i>Acaridae</i>					
<i>Acarus siro</i>					
Aca s 1	A7UNU3	A7UNU3_ACASI	EU092651	ABU50820.1	331
Aca s 2	A7XZH1	A7XZH1_ACASI	EU106609	ABU97460.1	143
Aca s 5	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
<i>Lepidoglyphus destructor</i>					
Lep d 1	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
Lep d 2	P80384	ALL2_LEPDS	X83875	CAA58755.1	141
Lep d 5	Q9U5P2.	ALL5_LEPDS	AJ250278	CAB62212.1	110
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>					
Tyr p 1	B0KZL4	B0KZL4_TYRPU	DQ983317	ABM53753.1	336
Tyr p 2	O02380	ALL2_TYRPU	Y12690	CAA73221.1	141
Tyr p 5	B2GM93	B2GM93_TYRPU	AY800358	AAX34057.1	135
<i>Chortoglyphidae</i>					
<i>Euroglyphus maynei</i>					
Eur m 1	P25780	PEPT1_EURMA	AF047610	AAC82351.1	321
Eur m 2	Q9TZZ2	ALL2_EURMA	AF047613	AAC82349.1	145
Eur m 5	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.

Se incluye el código de entrada para las secuencias de nucleótidos y aminoácidos.  
EMBL = European Molecular Biology Laboratory.

*glyphidae* (Der f 5 y Blo t 5 [44.03 %], Der p 5 y Blo t 5 [41.04 %]). Los demás apareamientos no sobrepasaron 40 % de identidad.

Análisis filogenéticos de las secuencias de ARNm y aminoácidos de los alérgenos de los grupos 1, 2 y 5 de los ácaros

La historia evolutiva fue inferida utilizando el método *neighbor-joining* para las secuencias de ARNm y aminoácidos. El árbol filogenético se obtiene de la suma de la longitud de las ramificaciones. El porcentaje de réplicas presentadas asociadas con cada una de las agrupaciones entre las taxas en la prueba de fidelidad de bootstrap se muestra en cada ramificación. La unidad de cada ramificación es igual a las distancias evolutivas usadas para inferir la filogenética del árbol. Estas fueron computadas usando el método de corrección de Poisson. La cantidad de nucleótidos y aminoácidos evaluados varía de acuerdo con la cantidad de espacios vacíos generados por el

alineamiento (gap) y nucleótidos ausentes entre cada secuencia estudiada.

Arboles de los alérgenos del grupo 1

En los árboles de los alérgenos del grupo 1 se incluyeron seis especies. La suma de las distancias de las ramificaciones para los arboles de ARNm y aminoácidos fueron de 1.72 y 2.036, respectivamente. Todos los nódulos presentaron una confiabilidad mayor a 90 % (exceptuando el nódulo de *Tyrophagus putrescentiae* y *Acarus siro* en el árbol por aminoácidos (55 %). La cantidad de monómeros evaluados fue de 600 nucleótidos y 208 aminoácidos. Ambos árboles presentaron una topología muy similar. Se observó estrecha relación entre las proteínas de la familia *Pyroglyphidae* y *Euroglyphus maynei*. Las dos especies de la familia *Acaridae* se encontraron en la misma ramificación, sin embargo, no presentaron una estrecha relación (distancia al nódulo, 0.39 *Tyrophagus putrescentiae* y 0.32

Cuadro 3. Alineamiento de alérgenos de ácaros del grupo 1 basado en las secuencias de aminoácidos

Alineamiento	Posiciones		Identidad (%)
	Idénticas	Similares	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> - <i>Dermatophagoides farinae</i>	266	42	82.86
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> - <i>Blomia tropicalis</i>	108	104	31.85
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> - <i>Acarus siro</i>	100	101	29.41
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> - <i>Euroglyphus maynei</i>	271	40	84.42
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> - <i>Tyrophagus putrescentiae</i>	91	118	26.30
<i>Dermatophagoides farinae</i> - <i>Blomia tropicalis</i>	113	100	33.33
<i>Dermatophagoides farinae</i> - <i>Acarus siro</i>	110	96	31.88
<i>Dermatophagoides farinae</i> - <i>Euroglyphus maynei</i>	276	33	85.98
<i>Dermatophagoides farinae</i> - <i>Tyrophagus putrescentiae</i>	99	103	28.53
<i>Blomia tropicalis</i> - <i>Acarus siro</i>	136	109	39.88
<i>Blomia tropicalis</i> - <i>Euroglyphus maynei</i>	115	92	34.02
<i>Blomia tropicalis</i> - <i>Tyrophagus putrescentiae</i>	127	102	37.13
<i>Acarus siro</i> - <i>Euroglyphus maynei</i>	106	98	31.08
<i>Acarus siro</i> - <i>Tyrophagus putrescentiae</i>	126	117	36.95
<i>Euroglyphus maynei</i> - <i>Tyrophagus putrescentiae</i>	95	116	27.37

Cuadro 4. Alineamiento de alérgenos de ácaros del grupo 2 basado en secuencias de aminoácidos\*

Alineamiento	Posiciones		Identidad (%)
	Idénticas	Similares	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Dermatophagoides farinae</i>	127	14	86.98
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Blomia tropicalis</i>	57	59	39.04
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Acarus siro</i>	58	44	39.72
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Lepidoglyphus destructor</i>	52	53	35.61
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Glycyphagus domesticus</i>	47	46	31.97
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Euroglyphus maynei</i>	123	18	84.24
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Tyrophagus putrescentiae</i>	57	53	39.04
<i>Dermatophagoides farinae-Blomia tropicalis</i>	58	61	39.72
<i>Dermatophagoides farinae-Acarus siro</i>	60	44	41.09
<i>Dermatophagoides farinae-Lepidoglyphus destructor</i>	61	51	41.78
<i>Dermatophagoides farinae-Glycyphagus domesticus</i>	53	44	36.05
<i>Dermatophagoides farinae-Euroglyphus maynei</i>	120	20	82.19
<i>Dermatophagoides farinae-Tyrophagus putrescentiae</i>	60	52	41.09
<i>Blomia tropicalis-Acarus siro</i>	63	51	44.05
<i>Blomia tropicalis-Lepidoglyphus destructor</i>	73	45	51.40
<i>Blomia tropicalis-Glycyphagus domesticus</i>	52	50	36.11
<i>Blomia tropicalis-Euroglyphus maynei</i>	59	59	40.69
<i>Blomia tropicalis-Tyrophagus putrescentiae</i>	72	44	50.70
<i>Acarus siro-Lepidoglyphus destructor</i>	65	46	45.45
<i>Acarus siro-Glycyphagus domesticus</i>	53	44	36.55
<i>Acarus siro-Euroglyphus maynei</i>	55	49	37.93
<i>Acarus siro-Tyrophagus putrescentiae</i>	58	51	40.55
<i>Lepidoglyphus destructor-Glycyphagus domesticus</i>	70	38	48.61
<i>Lepidoglyphus destructor-Euroglyphus maynei</i>	56	50	38.62
<i>Lepidoglyphus destructor-Tyrophagus putrescentiae</i>	66	48	46.47
<i>Glycyphagus domesticus-Euroglyphus maynei</i>	47	47	32.19
<i>Glycyphagus domesticus-Tyrophagus putrescentiae</i>	56	46	39.16
<i>Euroglyphus maynei-Tyrophagus putrescentiae</i>	54	53	37.24

\*Se describen posiciones idénticas, similares y porcentaje de identidad

*Acarus siro*). *Blomia tropicalis* fue la especie más divergente de los ácaros estudiados (figuras 1 y 2).

#### Arboles de los alérgenos del grupo 2

Para el análisis del grupo 2 se incluyeron ocho especies en ambos árboles. La suma de las distancias de las ramificaciones para los arboles de ARNm y aminoácidos fueron de 2.18 y 2.49, respectivamente. La confiabilidad de los nodulos fue en todos los casos mayor a 50 %. La cantidad de monómeros evaluados fue de 379 nucleótidos y 125 aminoácidos. La familia *Pyroglyphidae* presentó nuevamente la relación más estrecha (distancias < 0.2). La proteína más distante fue Aca s 2 seguida de Lep 2 y, además, la proteína de *Blomia tropicalis* se presentó muy distante en los dos árboles, sin ninguna relación con Gly d 2, perteneciente a la misma familia. La relación entre las demás especies fue muy baja, con ramas mayores a 0.27 en ambos arboles (figuras 3 y 4).

#### Arboles de los alérgenos del grupo 5

En los arboles filogenéticos del grupo 5 se incluyeron seis especies en ambos árboles. La suma de las distancias de las ramificaciones para los arboles de ARNm y aminoácidos fueron de 1.90 y 2.05, respectivamente. La confiabilidad de los nodulos fue en todos los casos mayor a 70 %. La cantidad de monómeros evaluados fue de 379 nucleótidos y 109 aminoácidos. Las especies con mayor relación fueron las pertenecientes al género *Dermatophagoides* (< 0.15).

En el árbol filogenético basado en la secuencia de ARNm se encontró nuevamente que la especie más distante de todas, incluyendo a la otra especie de la familia, fue *Blomia tropicalis*. En la secuencia de aminoácidos, Blo t 5 presentó mayor relación con Tyr p 5 que en el árbol de ARNm. Nuevamente las demás proteínas fueron bastante divergentes entre sí (figuras 5 y 6).

Cuadro 5. Alineamiento de Alérgenos de ácaros del grupo 5 basados en secuencias de aminoácidos

Alineamiento	Posiciones		Identidad (%)
	Idénticas	Similares	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Dermatophagoides farinae</i>	101	23	76.51
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Blomia tropicalis</i>	55	58	41.04
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Lepidoglyphus destructor</i>	40	45	30.07
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Glycyphagus domesticus</i>	47	49	18.43
<i>Dermatophagoides pteronyssinus-Tyrophagus putrescentiae</i>	49	48	36.29
<i>Dermatophagoides farinae-Blomia tropicalis</i>	59	53	44.03
<i>Dermatophagoides farinae-Lepidoglyphus destructor</i>	45	39	33.83
<i>Dermatophagoides farinae-Glycyphagus domesticus</i>	46	51	17.89
<i>Dermatophagoides farinae-Tyrophagus putrescentiae</i>	50	46	36.76
<i>Blomia tropicalis-Lepidoglyphus destructor</i>	53	35	39.55
<i>Blomia tropicalis-Glycyphagus domesticus</i>	62	40	24.21
<i>Blomia tropicalis-Tyrophagus putrescentiae</i>	69	43	51.11
<i>Lepidoglyphus destructor-Glycyphagus domesticus</i>	66	32	25.88
<i>Lepidoglyphus destructor-Tyrophagus putrescentiae</i>	48	36	35.55
<i>Glycyphagus domesticus-Tyrophagus putrescentiae</i>	57	51	22.17



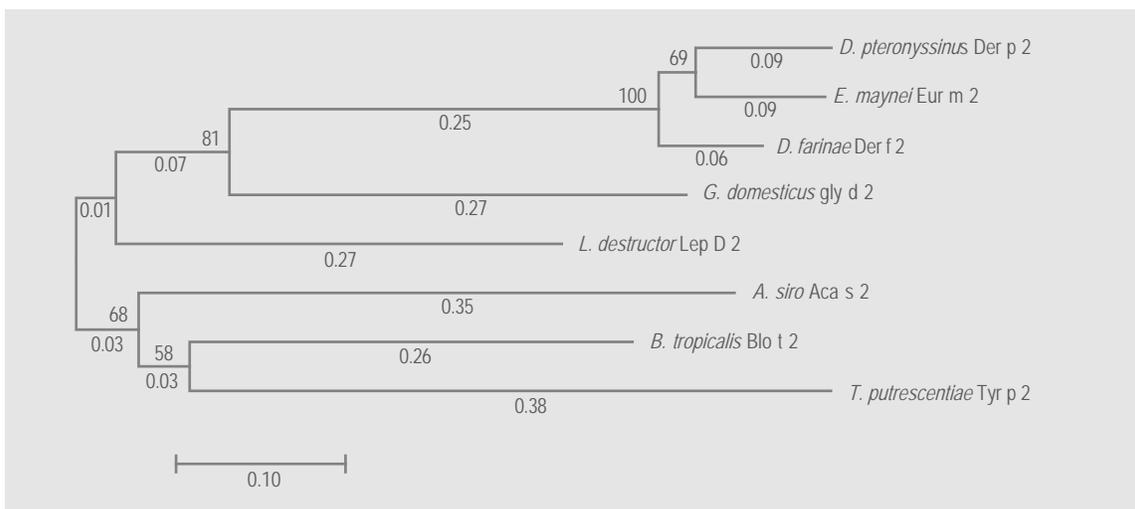


Figura 3. Árbol filogenético de alérgenos de ácaros grupo 2 a partir de las secuencias de ácidos nucleicos obtenidas mediante el método *neighbor-joining*. Se muestra con la suma de la longitud de la rama = 2.18019072. El árbol está dibujado a escala; al lado de las ramas se señalan las distancias evolutivas utilizadas. Hubo 379 posiciones en el conjunto de datos final.

morfológicas de las especies actualmente establecen relaciones poco consistentes con los análisis moleculares de las diferentes secuencias de ADN (genoma y mitocondrial), ARN (mensajero y ribosómico) y

aminoácidos de estos ácaros, lo que ha provocado un debate sobre la clasificación de las especies en diferentes grupos taxonómicos con propuestas de clasificación diferentes a las iniciales.<sup>17</sup>

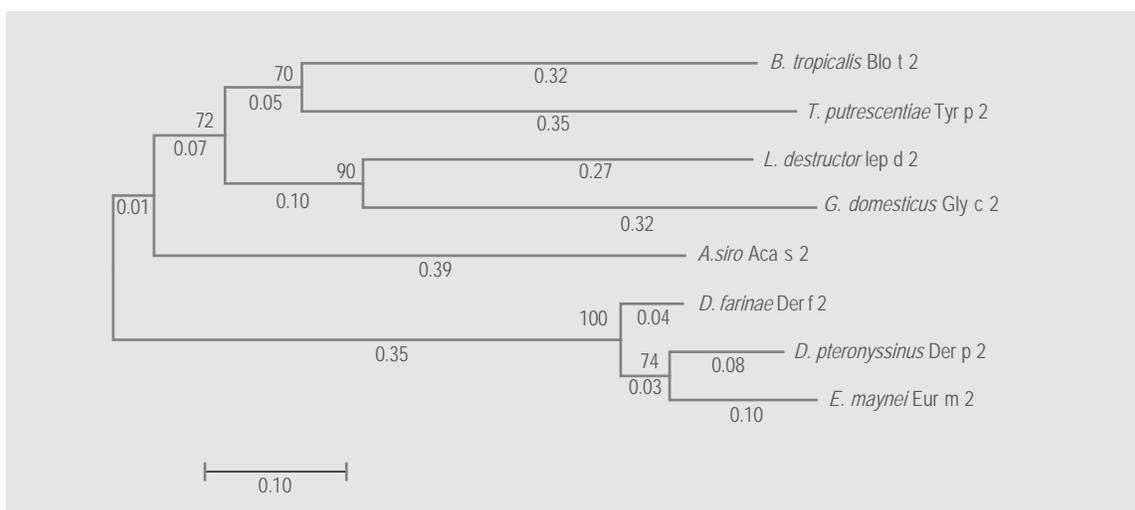


Figura 4. Árbol filogenético de alérgenos de ácaros grupo 2 a partir de las secuencias de aminoácidos. Se muestra con la suma de longitud de rama = 2.49796941. La historia evolutiva se dedujo utilizando el método *neighbor-joining*. Se eliminaron todas las posiciones que contenían vacíos y datos perdidos. Hubo 125 posiciones en el conjunto de datos final.

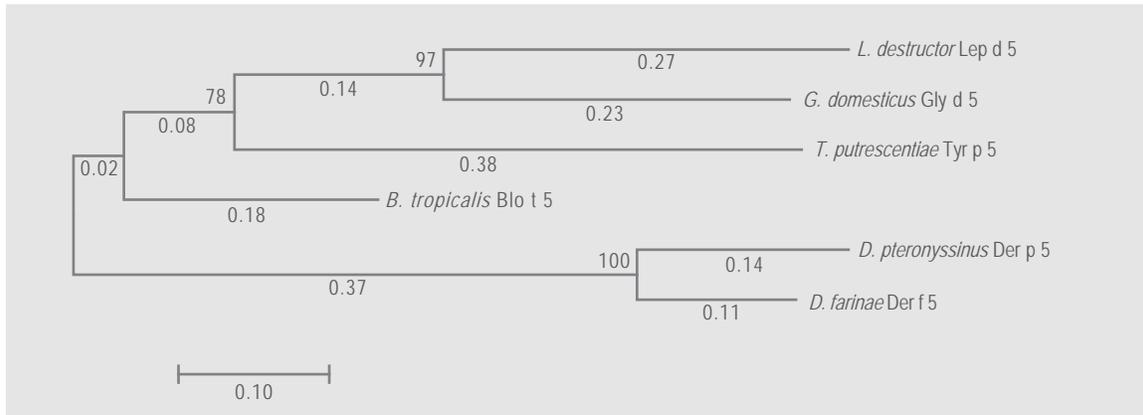


Figura 5. Árbol filogenético de alérgenos de ácaros grupo 5 a partir de las secuencias de ácidos nucleicos. La suma de la longitud de ramificación fue de 1.90357234. La historia evolutiva se realizó a partir del método *neighbor-joining*. En el árbol dibujado a escala se señala al lado de las ramas las distancias evolutivas utilizadas. Hubo 327 posiciones en el conjunto de datos final.

Clinicamente, esta categorización ha tomado importancia ya que diferentes grupos de proteínas de los ácaros son las principales fuentes de sensibilización y, muchas de estas tienen secuencias altamente conservadas presentando una alta homología. Entre mayor la identidad entre secuencias y exposición a los diferentes epítomos, mayor la probabilidad de presentar reactividad cruzada y, por tanto, de síntomas a un mayor número de especies de ácaros. Además, la presencia de estos ácaros y la concentra-

ción a la exposición de los alérgenos está relacionado con los niveles de IgE específico en suero y con el fenotipo del asma alérgica, con lo que se observa una relación entre el tipo de alérgeno y la familia a la que pertenece.<sup>18</sup> A partir de lo anterior, al conocer la estructura primaria de los diferentes alérgenos y que tan conservadas se encuentran, las secuencias de epítomos específicos y las concentraciones requeridas del alérgeno para desencadenar la sensibilización, se pueden realizar combinaciones de extractos

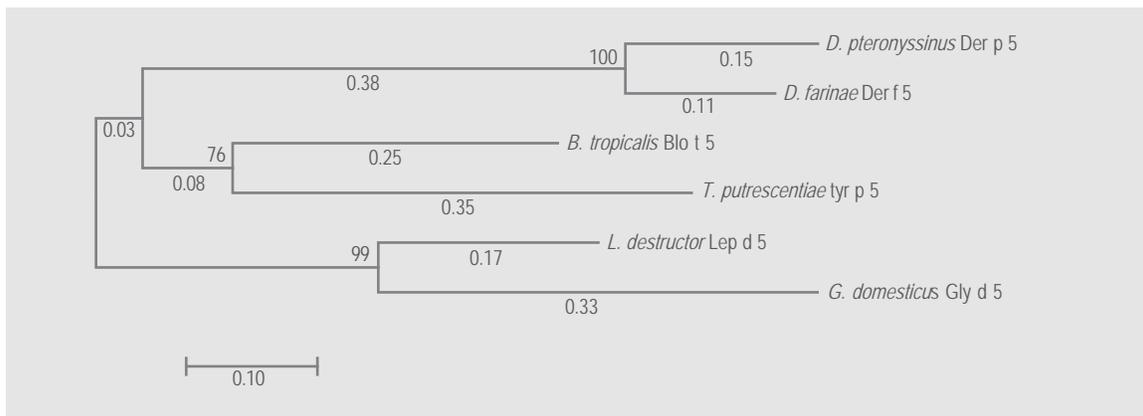


Figura 6. Árbol filogenético de alérgenos de ácaros grupo 5 a partir de las secuencias de aminoácidos. Se muestra el árbol óptimo con la suma de longitud de rama = 2.05448287. La historia evolutiva se dedujo utilizando el método *neighbor-joining*. Hubo 109 posiciones en el conjunto de datos final.

de ácaros o alérgenos para un mejor diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas.<sup>16,19</sup>

Los alérgenos de los grupos 1 y 2 son importantes en la medicina dada su alta frecuencia de unión con la IgE y estas proteínas son usadas frecuentemente en las pruebas de diagnóstico y en la inmunoterapia alérgeno-específica.<sup>20</sup> Por otro lado, el grupo 5 son proteínas homólogas de aproximadamente 15 kD, sin una función conocida. Los tres alérgenos se encuentran principalmente en las heces de los ácaros y están frecuentemente asociados con el desarrollo de síntomas en las personas atópicas.

En los tres grupos de alérgenos estudiados, la mayor homología se presentó entre los miembros de la familia *Pyroglyphidae* y en algunos casos estos presentaron una alta homología con alérgenos de otras familias. Para el grupo 1 y 2, *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Euroglyphus maynei* presentaron valores de identidad mayores a 80 %, mientras que en el grupo 5 la secuencia de Eur m 5 no está reportada en la base de datos, pero la identidad entre Der p 5 y Der f 5 fue de 76.51 %, lo que mostró alta conservación en los miembros de esta familia de proteínas y la probabilidad de que exista una reactividad cruzada entre los tres grupos de alérgenos de estos ácaros. La alta relación de esta familia se evidencia nuevamente al observar los árboles filogenéticos de los tres alérgenos, tanto de la secuencia de nucleótidos como de aminoácidos, con la relación más estrecha entre todos los organismos estudiados y ubicándolos en una rama totalmente independiente, afirmando la conservación molecular entre estas proteínas y su homología.

El género *Dermatophagoides* es considerado la principal fuente de alérgenos en el polvo doméstico y la especie más relevante en las enfermedades alérgicas como rinitis, asma y dermatitis en las zonas tropicales. Entre los alérgenos de este género, los grupos 1 y 2 son serodominantes respecto a los demás alérgenos. En el estudio de Sánchez *et al.*,<sup>16</sup> las pruebas con los extractos de las especies de esta familia presentaron alta cosensibilización y correlación en el tamaño de la pápula, sugiriendo también una reactividad cruzada entre estas especies. Al comparar los resultados filogenéticos con la prevalencia de sensibilización en esta población encontramos que existe alta relación en los resultados, con los valores más altos en la familia *Pyroglyphidae*. Además, al evaluar la razón de probabilidades, en-

contramos que Der f y Der p fueron el principal factor de riesgo para la sensibilización a otras fuentes, aumentando más de 20 veces la probabilidad de sensibilización a otros ácaros de la familia *Pyroglyphidae* y más de 10 veces la sensibilización a ácaros de otras familias.<sup>16</sup>

La identidad entre las demás familias en los tres grupos es muy baja, lo que demuestra una diversificación evolutiva entre estas moléculas y una muy baja posibilidad de reactividad cruzada. Estudios que evaluaron esta reacción entre *Pyroglyphidae* y las demás familias presentaron resultados diversos.<sup>3,4,9,12</sup> Se han planteado tres posibles causas:

- El origen diferente de los sueros obtenidos, con características genéticas y ambientales específicas, con una respuesta particular contra los alérgenos.
- En la mayoría de los casos se evalúa el extracto completo del ácaro y no los componentes moleculares.
- La fuente de donde se obtienen, ya que se ha demostrado que existen variantes genéticas entre los alérgenos de los ácaros provenientes de diferentes países y que la variación de aminoácidos puede influir también en la unión de IgE con el alérgeno.

Una simple modificación de un aminoácido puede alterar la respuesta inmunológica y la producción de citocinas.<sup>20,21,22</sup> Las implicaciones clínicas de estos hallazgos son varias: debido a la distribución cosmopolita de la familia *Pyroglyphidae* y su alta reactividad cruzada con otras especies de la familia *Acaridae*, su utilización en el diagnóstico de atopia y en el tratamiento de las alergias hace que no sea indispensable utilizar extractos de las otras dos familias, lo que ahorra tiempo y dinero tanto para el paciente como para el médico tratante. La excepción a esta utilidad práctica serían las zonas donde la frecuencia de ácaros de la familia *Chortoglyphidae* y *Acaridae* es mayor que la de los ácaros de la familia *Pyroglyphidae*, sin embargo, esto no suele presentarse en la región del trópico, donde imperan las especies de *Dermatophagoides*.

Para *Blomia tropicalis*, esta especie es una fuente importante de sensibilización al polvo doméstico en las regiones tropicales y subtropicales, ya que en estas zonas la humedad relativa (aproximadamente 85 %) y la temperatura (aproximadamente 28 °C)

son propicias para el desarrollo de este ácaro y la sensibilización es muy frecuente en la población. A partir de sus características morfológicas, esta especie es clasificada en la familia *Glyciphagidae*, sin embargo, al observar los árboles filogenéticos y los alineamientos encontramos que, en su mayoría, esta especie es la que presenta una mayor diversificación evolutiva incluso con *Glyciphagus domesticus*, especie perteneciente a esa familia, con una identidad muy baja en los alineamientos realizados y una muy baja relación con las demás especies en los árboles filogenéticos.

Nuestros resultados concuerdan con lo propuesto en 1982 por O'Connor, quien incorpora al género *Blomia* en un grupo taxonómico aparte. En trabajos realizados previamente encontramos baja correlación y probabilidad de cosensibilización entre *Blomia tropicalis* y las demás especies estudiadas, con valores bajos en la razón de sensibilización, lo que reafirma la distancia evolutivamente marcada de esta especie respecto a las familias estudiadas. Por esto, en la clínica es recomendable evaluar independientemente la alergenidad de esta especie, dada su baja relación con las otras especies y la poca probabilidad de reactividad cruzada.

A diferencia de las especies de la familia *Pyroglyphidae*, cuyas principales fuentes de sensibilización son los alérgenos de los grupos 1 y 2, el alérgeno del grupo 5 de *Blomia tropicalis* desempeña un papel importante en la sensibilización a esta especie, especialmente en enfermedades respiratorias como el asma. El reconocimiento de estas secuencias y la síntesis de epítomos específicos pueden ayudar a identificar posibles mecanismos de modulación de los linfocitos T e inhibir la secreción de IgE por parte de los linfocitos B.<sup>19</sup> Además, se están reconociendo nuevos alérgenos de gran importancia provenientes de *Blomia tropicalis*, como Blo t 7, el cual

puede inducir respuestas inmunes innatas a través de TLR2.<sup>23</sup> Por lo tanto, es necesario realizar más estudios sobre esta especie y sus diferentes alérgenos para comprender a cabalidad el papel que desempeña en las enfermedades alérgicas.

Por otro lado, *Glyciphagus domesticus* presentó mayor relación filogenética con *Lepidoglyphus destructor* en los alérgenos de los grupos 2 y 5 en las secuencias de aminoácidos, mas no en la secuencia de nucleótidos. Probablemente la relación es visible en los árboles filogenéticos dada la organización de las secuencias y los gap no visibles en el momento del alineamiento. Dada la homología, es probable que estas especies presenten un ancestro común y puedan reorganizarse en una sola familia. Esto se observa en la diversificación entre *Lepidoglyphus destructor* y *Acarus siro*, muy distantes en el árbol filogenético de ambas fuentes y con una identidad media en los alineamientos (45.45 %). Como contraste, *Acarus siro* mantiene una relación con *Tyrophagus putrescentiae*, especialmente en el grupo 1, consistente con la clasificación morfológica descrita. Sin embargo, se necesita analizar muchos más genes para confirmar esta relación.

En conclusión, los alérgenos de los grupos 1, 2 y 5 de las especies del género *Pyroglyphidae* son altamente conservadas y como principales moléculas de sensibilización deben considerarse y evaluar la posibilidad de reactividad cruzada entre ellas. *Blomia tropicalis* es un componente importante en la sensibilización en los trópicos y, por su distancia evolutiva, es importante evaluarlo independientemente de las demás. *Glyciphagus domesticus* y *Lepidoglyphus destructor* se encuentran en la misma familia y sus secuencias son altamente conservadas, por consiguiente, su evaluación como un componente individual también es necesaria, pero solo en las poblaciones donde se encuentre este ácaro.

---

## Referencias

1. Chong-Neto HJ, Rosário NA, Solé D, Latin American ISAAC Group. Asthma and rhinitis in South America: how different they are from other parts of the world. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2012;4(2):62-67. DOI: 10.4168/aaair.2012.4.2.62
2. Solé D, Mallol J, Wandalsen GF, Aguirre V; Latin American ISAAC Phase 3 Study Group. Prevalence of symptoms of eczema in Latin America: results of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase 3. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010;20(4):311-323. Disponible en: <http://www.jiaci.org/issues/vol20issue4/6.pdf>

3. Kurukulaaratchy RJ, Karmaus W, Arshad SH. Sex and atopy influences on the natural history of rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(1):7-12. DOI: 10.1097/ACI.0b013e32834ecc4e
4. Fasce L, Tosca MA, Baroffio M, Olcese R, Ciprandi G. Atopy in wheezing infants always starts with monosensitization. *Allergy Asthma Proc.* 2007;28(4):449-453. DOI: 10.2500/aap.2007.28.2966
5. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(3):466-476. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.06.047
6. Sánchez J, Páez B, Macías A, Olmos C, de Falco A. Atopic dermatitis guideline. Position paper from the Latin American Society of Allergy, Asthma and Immunology. *Rev Alerg Mex.* 2014;61(3):178-211. DOI: 10.29262/ram.v61i3.43
7. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy.* 2012;67(1):18-24. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x
8. Zakzuk J, Acevedo N, Cifuentes L, Bornacelly A, Sánchez J, Ahumada V, et al. Early life IgE responses in children living in the tropics: a prospective analysis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24(8):788-797. DOI: 10.1111/pai.12161
9. Sánchez J, Díez S, Cardona R. Frequency of sensitization to animals in a tropical area. *Rev Alerg Mex.* 2014;61(2):81-89. DOI: 10.29262/ram.v61i2.30
10. Burbach G, Heinzerling L, Edenharter G, Bachert C, Bindslev-Jensen C, Bonini S, et al. GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy.* 2009;64(10):1507-1515. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02089.x
11. Martínez J, Méndez C, Talesnik E, Campos E, Viviani P, Sánchez I. Skin prick test of immediate hypersensitivity in a selected Chilean pediatric population sample. *Rev Med Chil.* 2005;133(2):195-201. DOI: /S0034-98872005000200007
12. Caraballo L, Puerta L, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Martínez B. Sensitization to mite allergens and acute asthma in a tropical environment. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1998;8(5):281-284.
13. Kim CR, Jeong KY, Yi MH, Kim HP, Shin HJ, Yong TS. Cross-reactivity between group-5 and -21 mite allergens from *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae* and *Blomia tropicalis*. *Mol Med Rep.* 2015;12(4):5467-5474.
14. Simpson A, Green R, Custovic A, Woodcock A, Arruda LK, Chapman MD. Skin test reactivity to natural and recombinant *Blomia* and *Dermatophagoides* spp. allergens among mite allergic patients in the UK. *Allergy.* 2003;58(1):53-56. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2003.23354.x
15. Sánchez-Caraballo J, Díez-Zuluaga S, Cardona-Villa R. Sensibilización a aeroalérgenos en pacientes alérgicos de Medellín, Colombia. *Rev Alerg Mex.* 2012;59(3):139-147.
16. Sánchez J, Calvo V, Sánchez A, Díez S, Cardona R. Sensitization to 10 mites in a tropic area. Der p and Der f are important risk factor for sensitization to other mites from pyroglyphidae, acaridae, chortoglyphidae, and glycephagidae families. *Rev Alerg Mex.* 2017;64(2):153-162. DOI: 10.29262/ram.v64i2.243
17. Dabert M, Witalinski W, Kazmierski A, Olszanowski Z, Dabert J. Molecular phylogeny of acariform mites (acari, arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Mol Phylogenet Evol.* 2010;56(1):222-241. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.12.020
18. Susanto AJ, Rengganis I, Rumende CM, Harimurti K. The differences in serum quantitative specific IgE levels induced by *dermatophagoides pteronyssinus*, *dermatophagoides farinae* and *blomia tropicalis* sensitization in intermittent and persistent allergic asthma. *Acta Med Indones.* 2018;49(4):299-306. Disponible en: <http://www.actamedindones.org/index.php/ijim/article/view/458/pdf>
19. Wong KH, Zhou Q, Prabhu N, Furuhashi K, Chua YL, Grotenbreg GM, et al. *Blomia tropicalis* allergen 5 (Blo t 5) T-cell epitopes and their ability to suppress the allergic immune response. *Immunology.* 2017;152(2):344-355. DOI: 10.1111/imm.12772
20. Shafique RH, Klimov PB, Inam M, Chaudhary FR, OConnor BM. Group 1 allergen genes in two species of house dust mites, *dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (acari:

- pyroglyphidae): direct sequencing, characterization and polymorphism. *PloS One*. 2014;9(12):e114636. DOI: 10.1371/journal.pone.0114636
21. Thomas WR. Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens. *Allergol Int*. 2015;64(4):304-311. DOI: 10.1016/j.alit.2015.05.004
  22. Nilsson O, Binnmyr J, Zoltowska A, Saarne T, Van-Hage M, Grönlund H. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy*. 2012;67(6):751-757. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2012.02826.x
  23. Soongrung T, Mongkorntanyatipa K, Peepim T, Buaklin A, Le-Mignon M, Malainual N, et al. The *Blomia tropicalis* allergen Blo t 7 stimulates innate immune signaling pathways through TLR2. *Clin Exp Allergy*. 2018;48(4):464-474. DOI: 10.1111/cea.13098