Identification and characterization of important cockroach allergens in Egypt.

A Thesis Presented
To the
Department of Entomology
Faculty of Science, Ain Shams University
For the Award of **the Ph.D. Degree**
(In Entomology)
By

Weaam Ali Mahmoud Kamel
(M.Sc.)

Research Assistant, Allergy & Immunology Center,
Al Azhar University.

Supervisors

Prof. Dr. Adel Ibrahem Merdan
Prof. of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Prof. Dr. El-Desouki E. Fouda
Prof. of internal medicine, Director of
Allergy & Immunology Center,
Al-Azhar University .

Dr. Eman Mohamed Labeb
Assistant Prof.of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Dr. Bouthaina Adel Ibrahem
Assistant Prof. of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Faculty of Science,Department of Entomology
Ain Shams University
2007

Thesis Examination Committee

Name **Title** **Signature**

Board of supervision:-

Prof. Dr. Adel Ibrahem Merdan
Prof. of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Prof. Dr. El-Desouki E. Fouda
Prof. of internal medicine, Director of
Allergy & Immunology Center,
Al-Azhar University .

Dr. Eman Mohamed Labeb
Assistant Prof.of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Dr. Bouthaina Adel Ibrahem
Assistant Prof.of Entomology, Faculty of Science,
Ain Shams University.

Biography

Name : Weaam Ali Mahmoud Kamel

Degree awarded : B.Sc. (Entomology-Chemistry)1981.
M.Sc. Entomology , 2001
Faculty of Science,
Ain Sham University,
Egypt.

Occupation : Research assistant, Allergy
& Immunology Center,
Al Azhar University .

Date of registration : October, 2002 .
For Ph.D. Degree

Abstract

The present study is concerned with evaluation the role of cockroach in allergy .This study revealed the identification, characterization and purification of the crude cockroach allergen extracts. The most important of the common native cockroaches are the American and German cockroach (*Periplaneta americana* & *Blatella germanica*), were used to prepare the crude allergen extracts collected from different household in low-cost public housing where all had visible cockroach infestation and higher cockroach index trapped, occupied by people with asthma and have detectable serum total IgE.Ab.(more than 150 IU/ ml). The collected cockroach whole body of both sexes were killed by freezing and then lyophilized to get dry powdered samples for the preparation of the crude cockroach allergen extracts. Total protein measurement of the local prepared crude cockroach allergen and the commercial crude cockroach (American and German cockroaches), was the same ranging between (2.8 - 3.0 mg/dl.) ,then the two allergens were diluted with phosphate buffer saline which were given the best result with analysis of Sodium DodecylSulfate - PolyAcrylamide Gel Electrophoresis (SDS.PAGE), compared with the total protein of the commercial one.The amino acids analysis of the local crude and the commercial were done, the results revealed that two crude cockroach allergen extracts were very closely related in presence of glycine amino acid, the most notable differences were found in other amino acids due to the commercial CR. mixed with phenol and glycerol. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis for both the local CR and the commercial one revealed many distinct peaks which are corresponding to each others, in which there were many peaks closely the same in retention time. The golden male hamster have been used as a model of human allergy because similarities exist in the response to a variety of contractile and relaxant substance. Animal models have been developed to investigate the histopathologenic role of cockroach allergens in inducing allergy.Male hamsters sensitized with the crude cockroach allergen extracts have great effect on changed skin features with separation of the sheet root of hair follicles. Degranulation of mast cells, increased eosinophil counts and increased production of Total IgE. Ab. Exposure and sensitization to cockroach appears to be linked to socioeconomic condition and low income families, most of whom reported cockroach infestation in their homes. So the cockroach has been recognized as an etiologic factor and demonstrated a health problem to allergic subjects living in cockroach-infested environments.

الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية تقييم دور الصرصور كمسبب للحساسية، وأوضحت الدراسة تعريف و دراسة الخصائص و تنقية الأنتيجين المسبب للحساسية المستخلص من الصرصور. وقد تم أستخدام نوعان من الصراصير هما الصرصوالأ لماني و الأمريكى لتحضير المستخلص الخام المسبب للحساسية ، وقد تم تجميعهم من عدة منازل مختلفة يتواجد بها صراصير ويقطنها أفراد ذو مستوي معيشي متدني وقد لوحظ عند تحليل الدم لمعظم هؤلاء الأفراد وخاصة الاطفال أن مستوي الأمينجلوبيولين الكلي إيه (IgE) أعلي من نسبة المعدل العادى وهو أكثر من (150وحدة عالمية / مل). يتم تجميد ثم تجفيف أجزاء الجسم كاملا ذكر أو انثى للصراصبر المجمعة للحصول على بودرة جافة لتحضير المستخلص المسبب للحساسية . تم قياس البروتين لهذا المستخلص المحضر و المستخلص المستورد من الخارج لكل من الصرصورالأمريكى والألمانى، فكانت القراءات لكلاهما تتراوح بين(2.8– 3.0 مليجرام/ دسم.) ، ثم تخفيف المستخلصين بمحلول ملحي حيث أعطت أفضل النتائج عند التحليل بالهجرة الكهربائية ، مقارنة بقياس البروتين الموجود فى المستخلص المستورد. تم تحليل الأحماض الأمينه لكل من المستخلص المحضر بالدراسة والمستورد وأعطت النتائج وجود حمض الجليسين الأمينى فى كلاهما ، كما ظهرت بعض الأختلافات فى أنواع اخرى للأحماض الأمينية. تم عمل التحليل الكروتوجرافى لكلا من المستخلصين ، أوضحت النتائج عدة نقاط متطابقة لكلاهما. تم أستخدام حيوان التجارب ذكور فئران الهامستر الذهبى كمثال شبية للإنسان بتأثرة بمسببات الحساسية وأيضا لتأثرة الإيجابى للمواد المقلصة والمهدئة ، وذلك لمعرفة مدى تأثرة بمسببات الحساسية ضد الصراصير. لذا تم حقن ذكور الفئران بالمستخلص المسبب للحساسية ضد الصراصير وقد اعطت النتائج ظهور اختلافات واضحة فى تركيب الجلد الداخلي مع حدوث إنشقاق فى أماكن منبت الشعر الداخلى و تمزق للخلايا المستية وزيادة عدد خلايا الازينوفيل مع ارتفاع فى نسبة قياس الامينوجلوبين إى (IgE) فى الدم للفئران أعلى من المستوى الطبيعى 0 وخلصت النتائج فى هذة الدراسة أن التعرض والاستجابة لمسببات الحساسية ضد الصراصير له علاقة بالمستوى المعيشى المتدنى والدخل البسيط للعائلات . حيث أنه من الصعب عند السيطرة على تجمعات الصراصير تقليل مستوى الحساسية ، لذا فإن الصرصور يعتبر من العوامل البيئية المسببة للحساسية و المشاكل الصحية التي تصيب الأفراد الذين يعيشون فى بيئة يتواجد بها الصراصير.

.

Contents

List of Figures

List of Tables

:

List of Abbreviations

In the present study the following abbreviations were used :

Ab	:	Antibody.
Ag	:	Antigen.
AST-CR	:	Allergy skin test for cockroach.
AWBE	:	American cockroach whole body extract.
BAL	:	Bronchoalveolar Lavage .
BALF	:	Bronchoalveolar Lavage Fluid .
Bp	:	Base pairs.
BSA	:	Bovine Serum Albumin.
CRa-M	:	Mixture of equal of CRa-A & CRa-G .
CIE	:	Crossed immunoelectrophoresis .
CV	:	Coefficient of variation .
***Der p* I**	:	Antigen P_1 of *Dermatophagoides pteronyssinus*
Der f	:	Antigen F_1 of *Dermatophagoides farinae* .
Der m	:	Antigen M_1 of *Dermatophagoides microceras* .
EDTA	:	Ethylenediamine tetraacetic acid.
ELISA	:	Enzyme-linked immunosorbent assay .
FAST-CR	:	Fluorescence allergosorbent test for cockroach .
FEV	:	Forced expiratory volume .
GST	:	Glutathione transferase.
HPLC	:	High performance liquid chromatograghy.
IgE-Ab	:	Immunoglobuline E. Antibody .
PAGE	:	Polyacrylamide gel electrophoresis .
PBS	:	Phosphate-buffered saline.
KDa	:	Kilo dalton = 10^3 daltons .
RAST	:	Radioallergosorbent test .
RIA	:	Radioimmunoassay .
SDS	:	Sodium dodecyl sulphate .
TBs	:	Tris-buffer saline .
TEMED	:	N,N,N\,N\-tetramethylene diamine .