

UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2012

Thèse N° 178/12

L'APPORT DE L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE DANS LE DIAGNOSTIC DES DERMATOSES BULLEUSES

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 28/12/2012

PAR

M. IDRISSI HATIM

Né le 12 Janvier 1985 à Fès

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Immunofluorescence directe- Dermatoses bulleuses auto-immunes et non auto-immunes

JURY

Mme. AMARTI RIFFI AFAF..... PRESIDENT

Professeur d'Anatomie pathologique

M. HARMOUCH TAOUFIQ..... RAPPORTEUR

Professeur agrégé d'Histologie embryologie cyto génétique

Mme. BONO WAFAA.....

Professeur de Médecine interne

Mme. MIKOU OUAFAE.....

Professeur agrégé de Dermatologie

JUGES

PLAN

I. Introduction.....	4
II. Historique.....	6
III. Rappels	9
1 Histologie et ultrastructure de la peau	10
2 Principe et technique de l'immunofluorescence directe (IFD) cutanée	37
IV. Matériels et méthodes	50
V. Résultats	53
1 Caractéristiques cliniques générales.....	54
2 Caractéristique des dermatoses bulleuse	55
3 Diagnostic clinique	59
4 Résultats histologiques	61
5 Résultats de l'immunofluorescence directe (IFD) cutanée	64
6 Diagnostic final retenu	67
7 Corrélation du diagnostic final retenu avec le diagnostic clinique, histologique et l'IFD cutanée	69
VI. Discussion	73
VIII. Conclusion.....	112
IX. Résumés	114
X. Bibliographie.....	120

ABREVIATION

AC	: Anticorps
ACP	:Anticorps polyclonaux
ACM	: anticorps monoclonaux
Ag	: Antigène
CHU	: Centre hospitalier universitaire
DB	: Dermatoses bulleuses
DBAI	: Dermatoses bulleuses auto-immunes
DB non AI	: dermatoses bulleuses non auto-immunes
DBCE	: dermatose bulleuse chronique de l'enfant
DH	: dermaite herpétiforme
DIAL	: dermatose à IgA linéaire
Dp	: Desmoplaquine
DPS	: dermatose pustuleuse sous cornée
Dsc	: Desmocolline
Dsg	: Desmogléine
EBA	: Epidermolyse bulleuse acquise
EBC	:épidermolyse bulleuse congénitale
Env	: envoplakine
HG	: Herpes gestationis
Ig	: immunoglobuline
IF	: immunofluorescence
IFD	: immunofluorescence directe
IFI	: immunofluorescence indirecte
IME	: immunomicroscopie électronique
JDE	: jonction dermo-épidermoïde

LB	: lupus bulleux
Ld	: lamina densa
LE	: lupus érythémateux
LL	: lamina lucida
NIE	: neutrophilique intraémidermique
P	: Pemphigus
PB	: pemphigoïde bulleuse
PC	: Pemphigoïde cicatricielle
PE	: Pemphigus érythémateux
Per	: périplakine
PF	: Pemphigus foliacé
PG	: Pemphigoïde gestationnelle
PI	: Plectine
Pkg	: Plakoglobine
Pkp	: Plakophiline
PPN	: Pemphigus para néoplasique
Pvé	: Pemphigus végétant
Pvu	: Pemphigus vulgaire
UV	: ultraviolet
VPN	: valeur prédictive négative
VPP	: valeur prédictive positive

INTRODUCTION

L'immunofluorescence directe (IFD) est une technique qui consiste à déposer un anticorps spécifique de l'antigène recherché sur la lame de biopsie. Pour visualiser le complexe anticorps-antigène ainsi formé on utilise un colorant, le Fluochrome.

Les dermatoses bulleuses constituent un groupe de maladies nombreuses et hétérogènes. Elles sont secondaires à l'atteinte d'un ou de plusieurs constituants de la peau : épiderme, jonction dermo-épidermique ou derme. Elles se répartissent en dermatoses bulleuses auto-immunes et non auto-immunes. Elles sont de pronostics variables et parfois péjoratifs, d'où l'intérêt d'un diagnostic et d'une prise en charge rapides et adéquats. Le diagnostic repose sur des critères cliniques, histologiques et immunologiques. (1)

L'application de l'immunofluorescence directe aux biopsies cutanées a profondément modifié :

- d'une part l'approche diagnostique des dermatoses bulleuses.
- d'autre part l'approche pathogénique de ces dermatoses bulleuses, suggérant l'intervention d'un mécanisme auto-immun dans leur genèse.

Notre étude a pour but de préciser l'apport de l'immunofluorescence directe dans le diagnostic des dermatoses bulleuses.

Après un rappel sur l'ultrastructure de la peau et sur la technique de l'IFD cutanée, nous exposeront les résultats obtenus au laboratoire d'Anatomie pathologique du CHU Hassan 2 de Fès.

HISTORIQUE

Les racines de l'immunofluorescence remontent à 1929 lorsque Kendall et Heidelberger utilisèrent pour la première fois des protéines marquées dans leurs travaux d'immunologie.

Il s'ensuivit alors plusieurs travaux (travaux de HOPKINS et WORMALL, et de MARRACK) en vue de marquer des antigènes et des anticorps à l'aide de protéines colorées. Mais qui se soldèrent tous par des échecs à cause de la très faible intensité de coloration au microscope optique.

En 1941, COONS et COLL utilisèrent un traceur fluorescent, l'isocyanate de fluorescéine, dont la fluorescence était jaune-verdatre. Mais étant instable, ce traceur doit être préparé avant chaque utilisation. Ce qui a amené à son abondant au bénéfice de l'isothiocyanate de fluorescéine, plus stable, par RIGGS et COLL.

La technique d'immunofluorescence trouva alors rapidement de nombreuses applications, bactériologiques, virologiques et parasitologiques. Et la première fois qu'elle fut appliquée en dermatologie était dans les années cinquante par RAPPAPORT.

En 1964, BEUTNER et JORDON mirent en évidence des anticorps circulants anti-épidermiques dans le pemphigus. En 1967, JORDON décéla l'existence d'anticorps anti-membrane basale dans le sérum et la peau de malades atteints de pemphigoïde bulleuse.

Ces travaux permirent de penser raisonnablement qu'un mécanisme auto-immun était en cause dans le pemphigus et dans la variété dite pemphigoïde bulleuse de la maladie de Duhring-Brocq. D'autre part, ils renforcèrent singulièrement la théorie dualiste de la maladie de Duhring-Brocq, les autoanticorps anti-membrane basale étant uniquement retrouvés dans la variété pemphigoïde et jamais dans la variété herpétiforme(25).

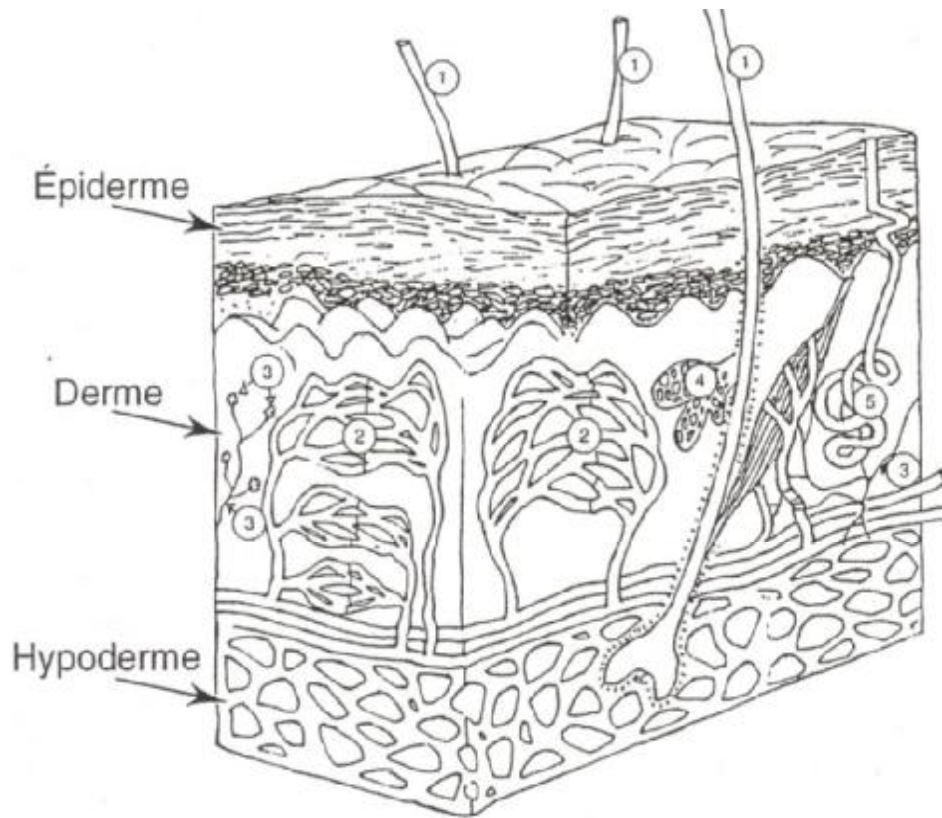
Au fil des expériences et des travaux l'étude immunohistologique sur les biopsies cutanées est devenu un élément capital pour le diagnostic des dermatoses bulleuses.

RAPPELS

1. GENERALITES, RAPPEL HISTOLOGIQUE ET ULTRASTRUCTURAL DE LA PEAU

1.1 Histologie de la peau

La peau est l'enveloppe du corps. Elle est en continuité avec les muqueuses recouvrant les cavités naturelles de l'organisme. C'est le plus gros organe de l'être humain, représentant un tiers du poids de l'organisme et une surface de l'ordre de 2m² chez un adulte. Elle est composée approximativement de 70% d'eau, de 27% de protéines, de 2% de lipides et près de 1% d'oligoéléments. La structure de la peau est complexe. Elle se subdivise en trois couches superposées. Une couche stratifiée superficielle, l'épiderme, qui repose sur un tissu de soutien, le derme. La couche profonde ou hypoderme est aussi appelée tissu sous-cutané (2). Ces trois grands étages sont le siège d'annexes cutanées (Schéma 1) :



1. Poils
2. Vaisseaux sanguins
3. Nerfs
4. Glande sébacée
5. Glande sudoripare

Schéma 1 (3) : Coupe schématique montrant les différents constituants du tissu cutané.

1.1.1 L'épiderme : (3)

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau et est décrit comme un épithélium malpighien pluristratifié kératinisé. Il est constitué de quatre types de cellules :

a) Les kératinocytes

Constituent 80% des cellules épidermiques.

a-1) Fonction :

Les kératinocytes assurent trois grandes fonctions liées à des structures morphologiquement individualisables :

la cohésion de l'épiderme et sa protection contre les agressions mécaniques en rapport avec le cytosquelette et les systèmes de jonction des kératinocytes entre eux

une fonction de barrière contre toute agression extérieure grâce à la différenciation apicale des kératinocytes en cornéocytes

la protection contre les radiations lumineuses en rapport avec les mélanosomes de stade IV qu'ils ont phagocytés.

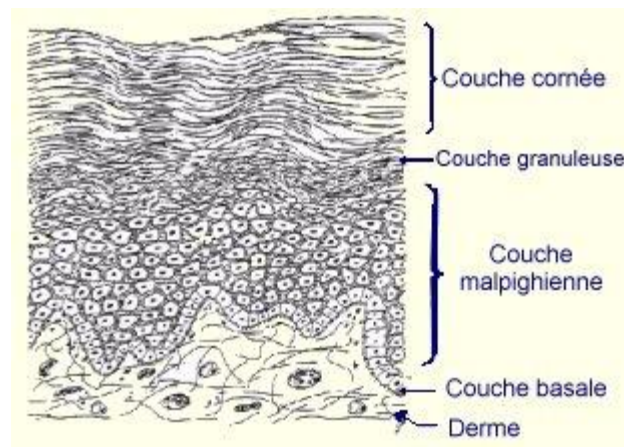
a-2) Structure :

Les kératinocytes sont placés en fonction de leurs divers stades de maturation. On peut ainsi séparer l'épiderme en couches successives de bas vers le haut qui se différencient par leur aspect morphologique (schéma 2):

- le stratum basal (ou couche basale) qui est constituée d'une assise unique de kératinocytes cylindriques directement en contact avec la jonction dermo-épidermique. Parmi les kératinocytes basaux se trouvent les cellules souches qui assurent le renouvellement de l'épiderme, d'où la présence de cellules en mitose dans la couche basale.
- le stratum spinosum (appelé avant corps muqueux de Malpighi), constituée de plusieurs assises de kératinocytes polygonaux. Leurs contours

apparaissent hérissés d'épines, d'où le nom de couche spineuse. Ces épines correspondent aux desmosomes qui accrochent les kératinocytes entre eux.

- le stratum granulosum (ou couche granuleuse), est constituée de plusieurs assises de cellules aplaties, au grand axe parallèle à la jonction dermo-épidermique. L'apparition dans le cytoplasme des kératinocytes de granulations basophiles basophiles (les grains de kératohyaline) est à l'origine de l'appellation couche granuleuse.
- le stratum lucidum,
- et enfin tout à fait en surface, le stratum cornéum (couche cornée) est constituée de plusieurs assises de cellules aplaties, anucléées, appelées cornéocytes. La couche cornée est compacte en profondeur au contact de la couche granuleuse, et desquamante en superficie.



Scéma 2 (2) : Coupe schématique montrant les différentes couches de l'épiderme

a-3) La microscopie électronique :

Révèle des marqueurs ultrastructuraux caractéristiques de la différenciation des kératinocytes de la peau: les mélanosomes de stade IV, les tonofilaments, les hémidesmosomes, les desmosomes et surtout dans la couche granuleuse : les grains de kératohyaline, les kératinosomes et dans la couche cornée : les cornéodesmosomes, le ciment intercornéocytaire et l'enveloppe cornée (schéma 3) :

- Les mélanosomes de stade IV, sont phagocytés en grand nombre par les kératinocytes basaux à partir des mélanocytes où ils ont été produits. Ils persistent plus ou moins dans les couches suprabasales suivant le phototype cutané.
- Les tonofilaments sont des filaments intermédiaires de 10 nm de diamètre rassemblés en trousseaux. Ils disparaissent dans la couche cornée où ils sont remplacés par des filaments intermédiaires organisés en un réseau.
- Les hémidesmosomes et les desmosomes sont les systèmes de jonction sur lesquels s'ancrent les tonofilaments: les hémidesmosomes accrochent les kératinocytes basaux à la matrice extra-cellulaire alors que les desmosomes accrochent les kératinocytes entre eux.

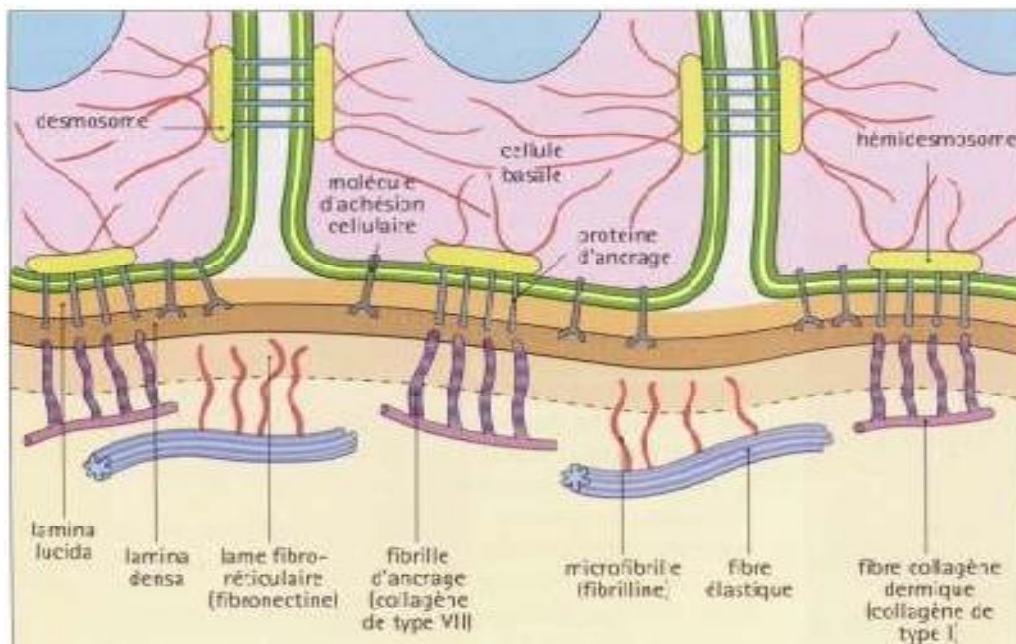


Schéma 3 : l'ultrastructure(<http://anatomy.iupui.edu/courses/histo>)

- Les cornéodesmosomes avec une ligne dense très épaisse au niveau de la couche cornée. Ces derniers sont finalement lysés ce qui aboutit à la desquamation des cornéocytes les plus superficiels.
- Les grains de kératohyaline et les kératinosomes sont caractéristiques et spécifiques des kératinocytes de la couche granuleuse de l'épiderme. Ce sont des marqueurs de la différenciation épidermique terminale. Ils disparaissent dans la couche cornée. Les grains de kératohyaline, très denses aux électrons, grands, étoilés, correspondant aux grains basophiles vus en microscopie optique; à fort grossissement, ils apparaissent amorphes sans membrane limitante. Les kératinosomes sont petits et trop petits pour être visibles en microscopie optique; ils sont ovalaires, entourés d'une membrane et contiennent des lamelles lipidiques. Ils migrent progressivement de la région périnucléaire à proximité de l'appareil de Golgi vers la membrane cytoplasmique avec laquelle ils fusionnent. Finalement ils déversent dans l'espace extra-cellulaire leur contenu, qui est à l'origine du ciment intercornéocytaire.

b) Les mélanocytes :

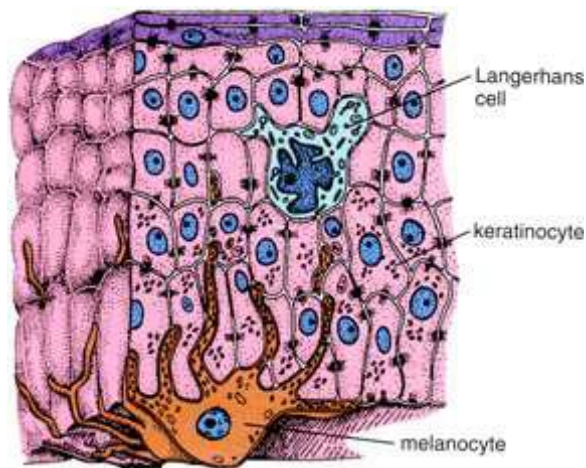
C'est la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme. Ils proviennent des crêtes neurales et ont pour rôle la synthèse des mélanines (phéomélanines et eumélanines). Ils ont un corps cellulaire arrondi et envoient des expansions qui s'insinuent entre les kératinocytes.

c) Les cellules de Langerhans :

C'est la troisième population cellulaire de l'épiderme.

Se sont de cellules dendritiques présentatrices d'Antigènes (Schéma 4).

Elles sont d'origine hématopoïétiques.



Shéma 4 : les différentes cellules de

l'épiderme(<http://anatomy.iupui.edu/courses/histo>)

d) Les cellules de Merkel :

Quatrième population cellulaire de l'épiderme.

Il s'agit de cellules neuro-endocrines épithéliales dérivant de cellules souches de l'épiderme fœtale.

Se sont des cellules isolées, situées entre les kératinocytes basaux au contact d'une terminaison nerveuse, de forme ovale et à grand axe souvent parallèle à la JDE.

1.1.2 La membrane basale :

La membrane basale est une structure qui sépare la couche externe de la peau, l'épiderme, de la couche interne de la peau, le derme.

Elle est formée de plusieurs composants spécifiques, qui combinés, forment un complexe d'ancrage. En superficie de la membrane sont présents les filaments intermédiaires du cytosquelette des cellules basales, qui contiennent de la kératine. Ces filaments sont insérés dans la membrane plasmique au niveau des hémidesmosomes. Les filaments d'ancrage s'étendent de la membrane plasmique des cellules basales jusqu'à l'environnement extracellulaire, voire jusqu'au niveau de la lamina lucida : permettant la connexion des hémidesmosomes avec la lamina densa.

A un niveau plus profond de la membrane basale, les fibrilles d'ancrage qui contiennent du collagène de type VII, s'étendent de la lamina densa jusqu'au derme papillaire, connectant la lamina densa avec les plaques d'ancrage et piégeant les fibres interstitielles de collagène.

Ainsi la membrane basale cutanée raccorde le réseau de cellules basales du cytosquelette avec le réseau abondant des fibrilles de collagène interstitielles du derme.

1.1.3 Le derme (3) :

Le derme est la couche essentielle de la peau. Il lui confère sa résistance et son élasticité. Il contient beaucoup moins de cellules (fibroblastes, macrophages), mais présente une grande quantité de tissu de soutien (collagènes, fibres élastiques). Il est aussi le lieu de passage des vaisseaux sanguins, des lymphatiques et des nerfs. Sa face superficielle est hérissée de reliefs de hauteur variable, de papilles dermiques qui engrènent derme et épiderme et par sa surface profonde, le derme est en rapport avec l'hypoderme.

Le derme est riche en fibres conjonctives :

- Collagène : donne soutien, extensibilité et résistance à la peau, très abondant dans la peau cicatricielle et responsable d'hypertrophie.
- Elastine : donne élasticité à la peau saine, pratiquement inexistante dans le tissu cicatricielle.

Le derme comporte deux zones: le derme papillaire et le derme réticulaire (schéma 5):

- Le derme papillaire, superficiel, mince, est constitué de l'ensemble des papilles dermiques situées entre les crêtes épidermiques. Il est formé de tissu conjonctif lâche avec des fibres de collagène, fines, isolées et orientées le plus souvent perpendiculairement ou obliquement par rapport au plan de la membrane basale, des fibres de réticuline, l'arborisation terminale du réseau élastique, des fibroblastes, des cellules d'origine hématopoïétiques autour des anses capillaires terminales des vaisseaux sanguins, les anses borgnes lymphatiques, des terminaisons nerveuses et les récepteurs au tact que sont les corpuscules de Meissner.
- Le derme réticulaire sous-jacent est d'épaisseur variable. Il est formé d'un tissu conjonctif dense constitué essentiellement de fibres : les fibres de collagène épaisses en gros faisceaux et les fibres élastiques s'entrecroisent dans toutes les directions dans des plans grossièrement parallèles à la surface cutanée. Le derme réticulaire contient aussi de petites artérioles, des veinules et des glomus artério-veineux, des lymphatiques, des petits nerfs sensitifs et du système nerveux autonome, des follicules pilo-sébacés et les muscles arrecteurs des poils (sauf au niveau des paumes et des plantes) et enfin les canaux excréteurs des glandes sudorales.

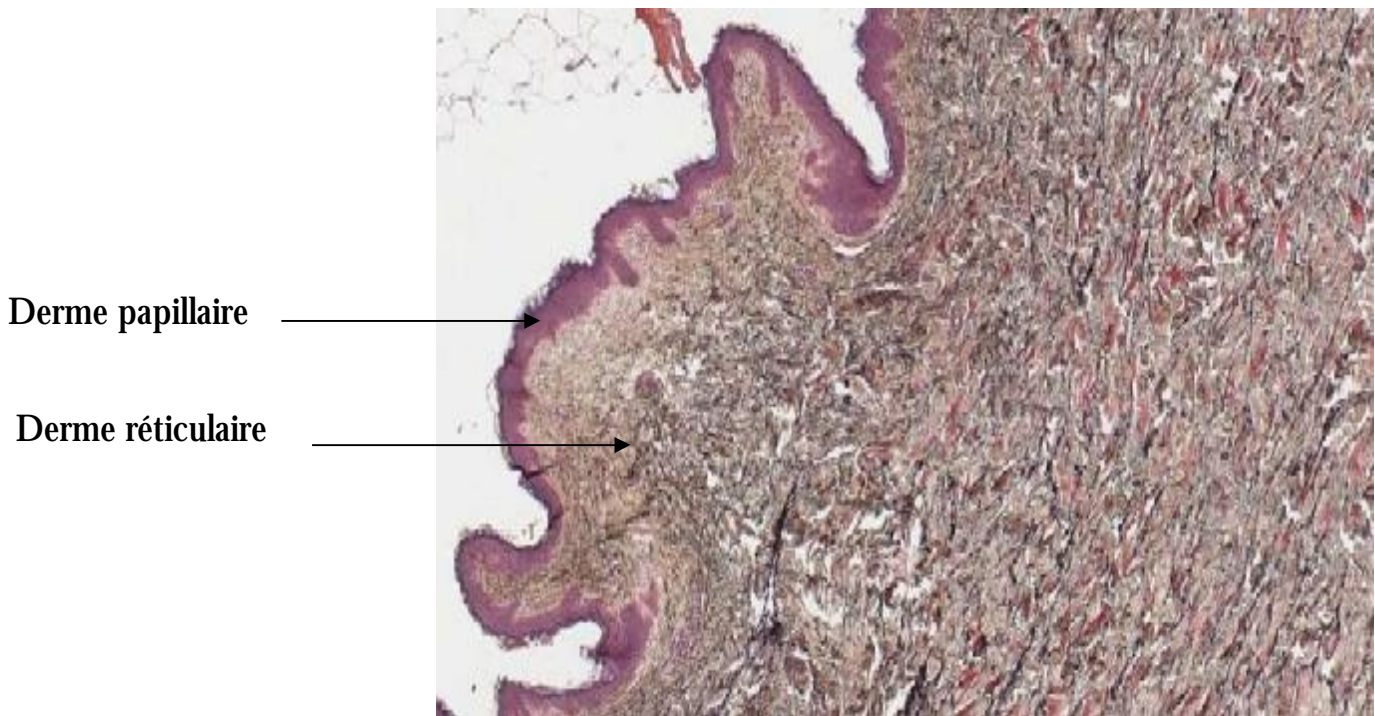


Schéma5 (2): coupe histologique du derme

1.1.4 L'hypoderme

On y distingue :

- le tissu graisseux formé d'adipocytes groupées en lobules,
- et les septums interlobulaires qui sont des tractus conjonctifs séparant les lobules graisseux, et servent de lieu de passage aux nerfs et aux vaisseaux qui assurent la vascularisation de la peau.

1.1.5 Les annexes épithéliales de la peau : (Schéma 6)

On en distingue trois types : les follicules pilosébacés, auxquels sont annexés les muscles lisses pilomoteurs, les glandes sudorales eccrines et apocrines, ayant une partie sécrétante en profondeur (hypoderme) et un canal excréteur vers la surface cutanée, les ongles, qui résultent d'un processus de kératinisation particulière, à partir de la matrice unguéale donnant naissance à la tablette.

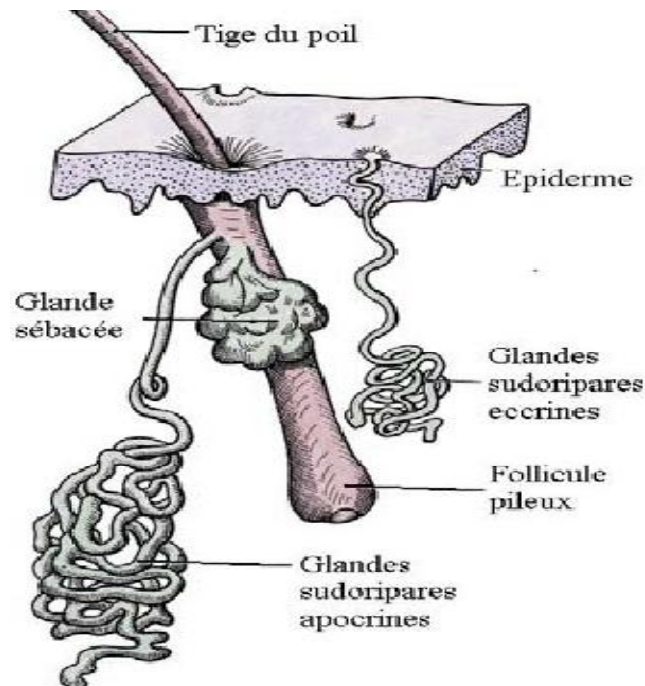


Schéma 6 : annexes de la peau(<http://anatomy.iupui.edu/courses/histo>)

1.2 Ultrastructure de la peau

1.2.1 Introduction

L'ultrastructure de la peau est importante à connaître pour comprendre la physiopathologie des dermatoses auto-immunes. En effet, les dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI), sont des maladies acquises caractérisées par l'existence d'autoanticorps dirigés contre les structures de l'épiderme ou de la jonction dermo-épidermique (JDE). On distingue (4):

- les DBAI intraépidermique (pemphigus) : où la perte de la cohésion des kératinocytes (acantholyse) est due à l'altération des desmosomes par des autoanticorps,
- les DBAI sous-épidermique : avec perte de l'adhésion dermo-épidermique par altération d'un des composants de la jonction dermo-épidermique (JDE) par des autoanticorps.

Ainsi, nous allons étudier dans ce chapitre les structures du desmosome et de la jonction dermo-épidermique et leurs différentes molécules impliquées dans les dermatoses bulleuses auto-immunes.

1.2.2 Les jonctions d'adhésion interkératinocytaires ou desmosomes

1.2.2.1 Structure des desmosomes (Schéma 7)

Système de jonction entre deux kératinocytes, le desmosome se présente comme une structure symétrique avec successivement de part et d'autre d'une région centrale dense extracellulaire (5) :

- la membrane plasmique des kératinocytes,
- une plaque dense de 0,1 à 2 microns de longueur et d'épaisseur régulière accolée au feuillet interne de la membrane plasmique,
- les tonofilaments (filaments intermédiaires des kératines) accrochés sur cette plaque.

Les desmosomes, par les molécules qui les composent, participent au maintien de la cohésion de l'épiderme.

1.2.2.2 Architecture moléculaire des desmosomes (Schéma 8)

Les molécules des desmosomes se répartissent en molécules transmembranaires et molécules des plaques (5, 6) :

- Les molécules transmembranaires, dites molécules d'adhérence, constituent les cadhérines desmosomales.
- Les molécules des plaques (plakines) servent d'intermédiaire entre les cadhérines desmosomales et le cytosquelette de filaments intermédiaires (tonofilaments de kératine).

Ainsi, dans chacune des deux kératinocytes (K1, K2) adjacentes, il y'a un complexe formé de « cadhérines desmosomales – plakines – kératines ». Ces deux complexes s'accrochent au niveau des cadhérines desmosomales

transmembranaires, créant une communication transkératinocytaire des filaments intermédiaires, chose cruciale dans l'intégrité épidermique (Schéma 8)

1.2.2.2.1 Les cadhérines desmosomales (Schéma 9)

Ce sont des molécules transmembranaires, dites des molécules d'adhérence, qui s'associent entre elles par des liaisons homophiliques. Ce sont les desmoglénines (Dsg) et les desmocollines (Dsc), qui ont chacune trois molécules différentes (Dsg 1, 2, 3 et Dsc 1, 2, 3) codées par trois gènes différents (7, 6, 8).

Localisation :

Les Dsg sont localisés au niveau de la région centrale dense extracellulaire et sont intégrés dans la plaque dense desmosomale.

Biochimie :

Ce sont des glycoprotéines qui sont proches des cadhérines classiques dans leur domaine extracellulaire (4 segments EC1 à EC4), leur domaine transmembranaire (EA + IA) et leur premier domaine intracellulaire (ICS). Elles en diffèrent considérablement par leur extrémité cytoplasmique, particulièrement longue pour les desmoglénines (9). Les poids moléculaires des principales cadhérines desmosomales est comme suit :

Dsg 1 : 160 kDa, Dsg 3 : 130 kDa, Dsc 1 : 115 kDa, Dsc 2 : 107 kDa

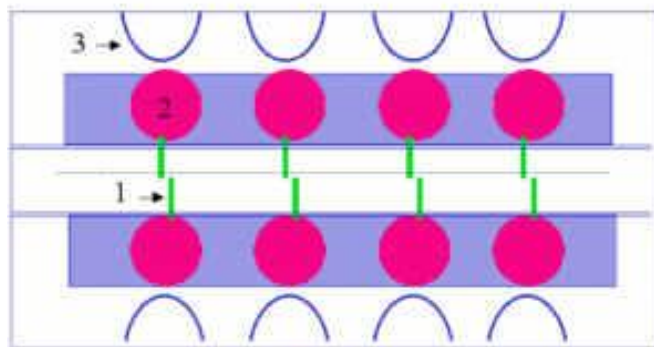
Distribution dans l'épiderme :

L'expression du Dsg 1 et du Dsc 1 augmente des couches basales vers les couches superficielles, alors que la Dsc 2 est concentrée dans les couches basales. L'expression du Dsg 3 est limitée aux couches basales et suprabasales (10).

Fonction :

Les cadhérines desmosomales d'un kératinocyte interagissent avec celles homologues du kératinocyte adjacent à travers leurs domaines extracellulaires. Et par leur domaine intracellulaire, les cadhérines s'attachent aux protéines des plaques (plakoglobine, plakophiline et desmoplakine). Ainsi, en plus de leur

fonction adhésive interkeratinocytaire, elles jouent un rôle important dans l'assemblage de la plaque dense desmosomale (5).



- (1) molécules transmembranaires (cadhérines desmosomales)
- (2) molécules des plaques (plakines)
- (3) filaments intermédiaires (kératines)

Schéma 7 : *Modèle schématique d'un desmosome.*

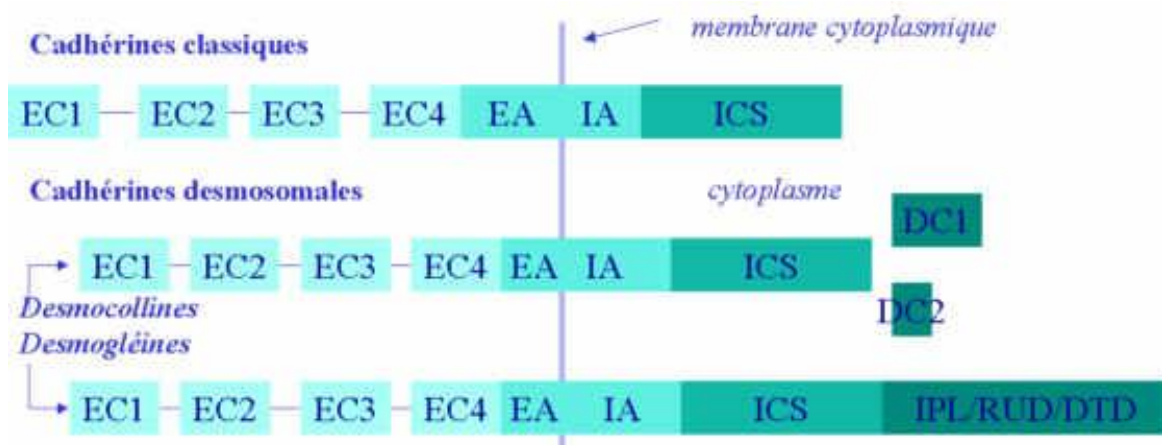


Schéma 9 : *Cadhérines desmosomales et cadhérines classiques.*

1.2.2.2.2 Les molécules des plaques

Ce sont des protéines localisées au niveau de la plaque dense desmosomale. Elles sont composées de deux familles : les plakines et les protéines « armadillo-like » (5, 6).

a. Famille des plakines

Elle comprend quatre protéines : les desmoplakines (Dp) ayant deux variantes (Dp1 et Dp2), la plectine (Pl), l'envoplakine (Env) et la périplakine (Per).

Biochimie : les plakines partagent une structure commune formée par trois régions : un domaine externe globulaire amino-terminal, un domaine central ayant la forme d'une tige spiralée et un domaine interne globulaire carboxy-terminal (112). Les poids moléculaires des plakines sont comme suit : Dp1 = 250 kDa, Dp2 = 210 kDa, Pl = 300 kDa, Env = 210 kDa et Per = 195 kDa.

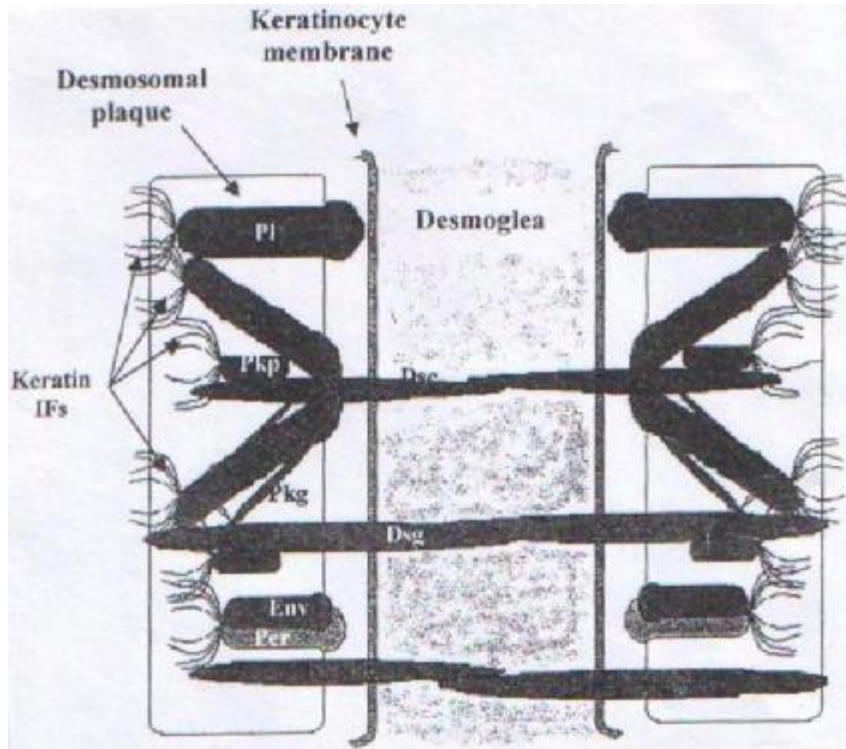
Fonction : Les plakines sont surtout impliquées dans l'ancrage des tonofilaments de kératine au desmosome et à la membrane cytoplasmique. Elles contribuent ainsi à l'intégrité de la structure kératinocytaire. Les plakines les plus abondantes sont les desmoplakines (Dp), elles sont liées par leur domaine carboxy-terminal au cytosquelette des filaments intermédiaires (kératines), et par leur domaine amino-terminal à l'extrémité cytoplasmique des cadhérines desmosomales. Ainsi, elles permettent la communication interkératinocytaire des filaments intermédiaires.

b. Famille des protéines « armadillo-like »

Elle comprend essentiellement la plakoglobine (Pkg) et la plakophiline (Pkp). La plakophiline (Pkp) a trois isoformes : Pkp 1, 2, 3. Les poids moléculaires de ces protéines sont comme suit :

Pkg = 83 kDa, Pkp1 = 75 kDa, Pkp2 = 100 kDa et Pkp3 = 87 kDa.

Cette famille a un rôle crucial dans l'assemblage et la stabilité du desmosome, en se liant par leurs extrémités terminales aux différentes molécules desmosomales.



PI : Plectine

Pkp : Plakophiline

Env : Envoplakine

Per: Périplakine

Pkg : Plakoglobine

Dp : Desmoplakine

Dsc : Desmocolline

Dsg : Desmogléine

IFs: Filaments intermédiaire

Schéma 8 : Architecture moléculaire des desmosomes (9).

1.2.2.3 Rôle des molécules desmosomales dans les dermatoses bulleuses auto-immunes intraépidermique ou Pemphigus

Les autoanticorps du pemphigus sont dirigés contre les molécules desmosomales (autoantigènes), occasionnant une perte de la cohésion des kératinocytes responsable de l'acantholyse. Généralement, chaque type de pemphigus est défini par ses propres antigènes cibles (11, 5, 6, 10, 9).

1.2.2.3.1 Rôle des cadhérines desmosomales

Le desmogléine 3 (Dsg3) et le desmogléine 1 (Dsg1) sont les cibles antigéniques des autoanticorps respectivement dans le pemphigus vulgaire et le

pemphigus foliacé. Cependant, entre 25 et 60% des autoanticorps du pemphigus vulgaire reconnaissent le Dsg 1 (7).

Le Dsg1 et le Dsg3 sont aussi reconnus par les autoanticorps du pemphigus herpétiforme et du pemphigus paranéoplasique. Le Dsg3 est reconnu par les autoanticorps du pemphigus à IgA (type neutrophilique intraépidermique). La desmocolline 1 (Dsc1) est reconnue par les autoanticorps du pemphigus à IgA (type dermatose pustuleuse sous cornée). Les Dsc1 et Dsc2 sont reconnues par quelques autoanticorps du pemphigus foliacé et vulgaire (9).

1.2.2.3.2 Rôle de la famille des plakines

Les protéines de la famille des plakines ont été identifiées comme des cibles antigéniques dans le pemphigus paranéoplasique.

1.2.2.3.3 Rôle des protéines « armadillo-like »

Jusqu'à présent, ces protéines ne constituent des cibles antigéniques à aucun autoanticorps.

Le tableau suivant résume les molécules desmosomales (autoantigènes) reconnus par les autoanticorps du pemphigus :

Tableau 1 : *Pemphigus* et leurs antigènes cibles desmosomales

Pemphigus		Molécule(s) cible(s)	Poids moléculaires (kDa)	Familles des molécules desmosomales
Pemphigus vulgaire		Desmogléine 3	130	Cadhérines desmosomales transmembranaires
		(+/-) Desmogléine 1	160	
		(+/-) Desmocolline 1	115	
		(+/-) Desmocolline 2	107	
Pemphigus foliacé		Desmogléine 1	160	Cadhérines desmosomales transmembranaires
		(+/-) Desmocolline 1	115	
		(+/-) Desmocolline 2	107	
Pemphigus herpétiforme		Desmogléine 1	160	Cadhérines desmosomales transmembranaires
		Desmogléine 3	130	
Pemphigus à IgA	NIE	Desmogléine 3	130	Cadhérines desmosomales transmembranaires
	DPS	(+/-) Desmocolline 1	115	
Pemphigus paranéoplasique		Desmoplakine 1	250	Protéines des plaques « plakines »
		Desmoplakine 2	210	
		Plectine	300	
		Envoplakine	210	
		Périplakine	195	
		Desmogléine 1	160	Cadhérines desmosomales transmembranaires
		Desmogléine 3	130	

1.2.3 La jonction dermo-épidermique (JDE)

La JDE est une membrane complexe, assurant l'adhésion de l'épiderme au derme sous-jacent.

1.2.3.1 Structure de la jonction dermo-épidermique (JDE) (Schéma 10)

En microscopie électronique, la JDE (d'environ 100 nm d'épaisseur) est constituée de trois couches, de l'épiderme vers le derme (12, 13, 14) :

- la membrane cellulaire,
- la membrane basale constituée de deux feuillets, la lamina lucida (LL) et la lamina densa (LD),
- la sub-lamina densa.

1.2.3.1.1 La membrane cellulaire

Elle est constituée par la membrane plasmique du pôle basale des kératinocytes basaux. Ces derniers contiennent les hémidesmosomes, formés de la plaque desmosomale sur laquelle s'insèrent les tonofilaments de kératines.

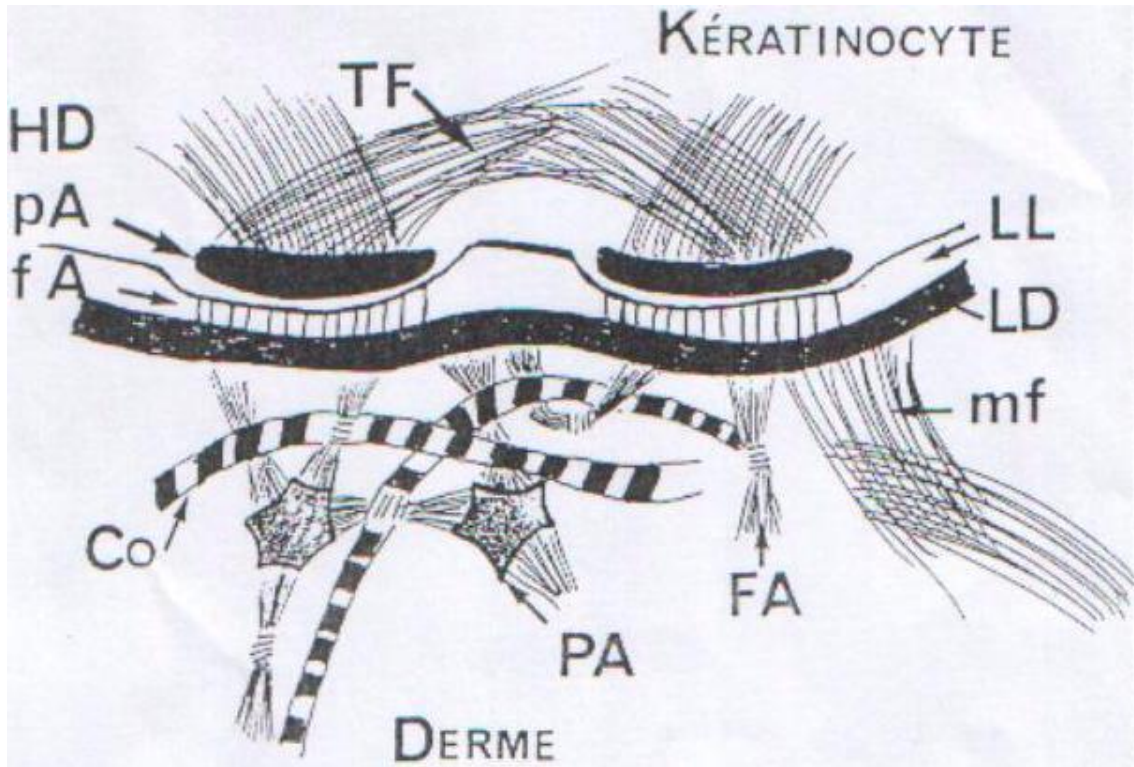
1.2.3.1.2 La membrane basale

a. La lamina lucida (LL)

D'environ 20 à 40 nm d'épaisseur, claire aux électrons, elle contient une plaque dense sous-basale reliée à la plaque desmosomale par les filaments d'ancrages issus des hémidesmosomes et s'insérant également sur la lamina densa (LD).

b. La lamina densa (DL)

D'environ 30 à 60 nm d'épaisseur, dense aux électrons, elle constitue une bande sombre, continue et linéaire sous la LL.



- | | | |
|--------------------|---------------------------|--------------------------------------------|
| TF : tonofilaments | HD : hémidesmosomes | mf : microfibrilles associées à l'élastine |
| LL : lamina lucida | LD : lamina densa | pA : plaque d'ancrage des tonofilaments |
| Co : collagène | FA : fibrilles d'ancrages | fA : filaments d'ancrage |

Schéma 10 (9): Ultrastructure de la membrane basale.

1.2.3.1.3 La sub-lamina densa

Elle est constituée de trois types de fibres :

a. Les fibrilles d'ancrage

Ces fibrilles sont les plus importantes, elles émanent de la lamina densa (LD) et s'étendent jusqu'au derme. Elles forment parfois des ponts entre plusieurs zones de la LD.

b. Les microfibrilles dermiques

Elles ancrent plus profondément la LD au derme et sont étroitement associées à ce niveau aux fibres élastiques.

c. Les fibres de collagènes

1.2.3.2 Composition moléculaire de la jonction dermo-épidermique (JDE)

Plusieurs composants de la JDE sont actuellement bien caractérisés sur les plans biochimique et moléculaire (15, 16, 13) (Schéma 11).

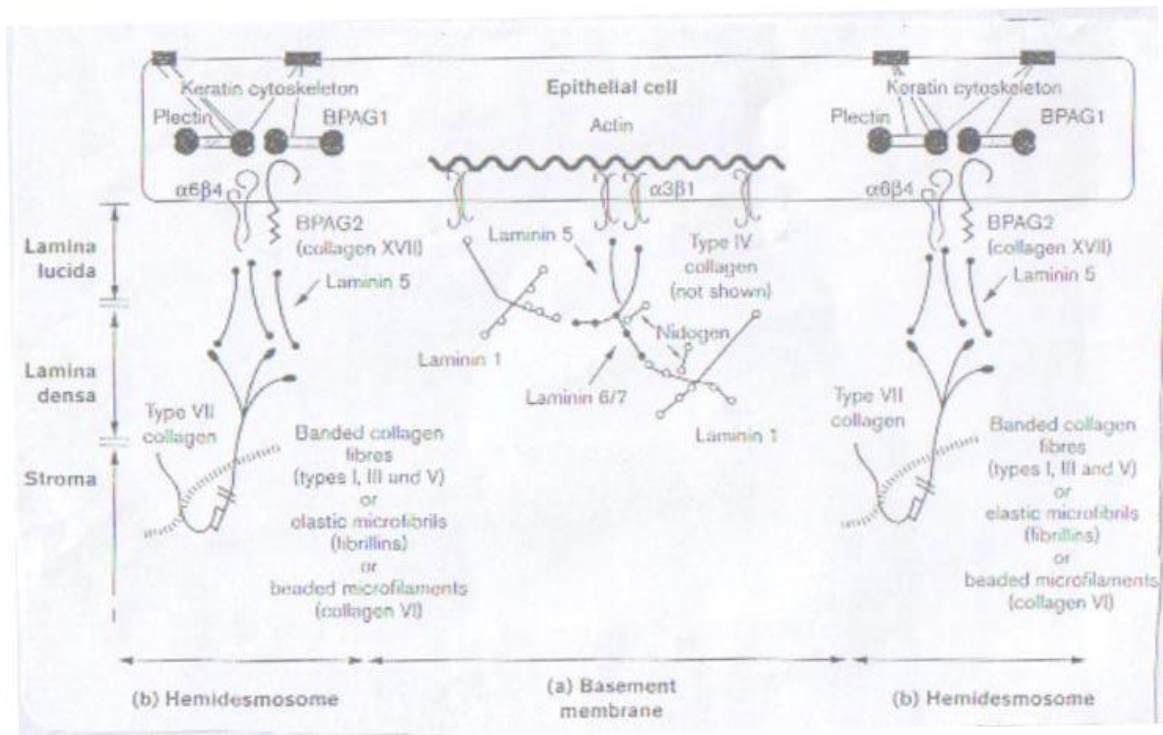


Schéma 11 : Organisation moléculaire de la JDE (18).

1.2.3.2.1 Les molécules des hémidesmosomes (Schéma 12)

Les hémidesmosomes, complexes multiprotéiques, attachent les kératinocytes basaux à la membrane basale. Ses protéines sont divisées en deux types :

a. Protéines de la plaque dense hémidesmosomale

Ces sont des protéines strictement interkératinocytaires et font partie de la famille des plakines. Ces protéines sont accolées à la membrane cytoplasmique (du pôle basale des kératinocytes basaux), et forment une plaque d'ancrage où s'insèrent les tonofilaments de kératine (filaments intermédiaires). Parmi les molécules de cette plaque dense cytoplasmique se trouvent :

- l'antigène 1 de la pemphigoïde bulleuse « BPAG 1 ». Son poids moléculaire est de 230 kDa d'où son nom « BP 230 »
- la plectine dont le poids moléculaire est de 500 kDa.

D'autres protéines sont moins caractéristiques appelées IFAP 300 et la protéine 200.

b. Protéines transmembranaires hémidesmosomales

Elles agissent à titre de récepteurs cellulaires, établissant le lien entre le cytoplasme et la matrice extracellulaire. Ces molécules s'organisent en de fins filaments d'ancrage. Abondants sous les hémidesmosomes, ces filaments d'ancrage produisent alors une plaque dense sous basale dans la lamina lucida. Ainsi par les filaments d'ancrage qu'elles forment, ces protéines transmembranaires, ont la fonction de relier la plaque dense hémidesmosomale à la lamina lucida.

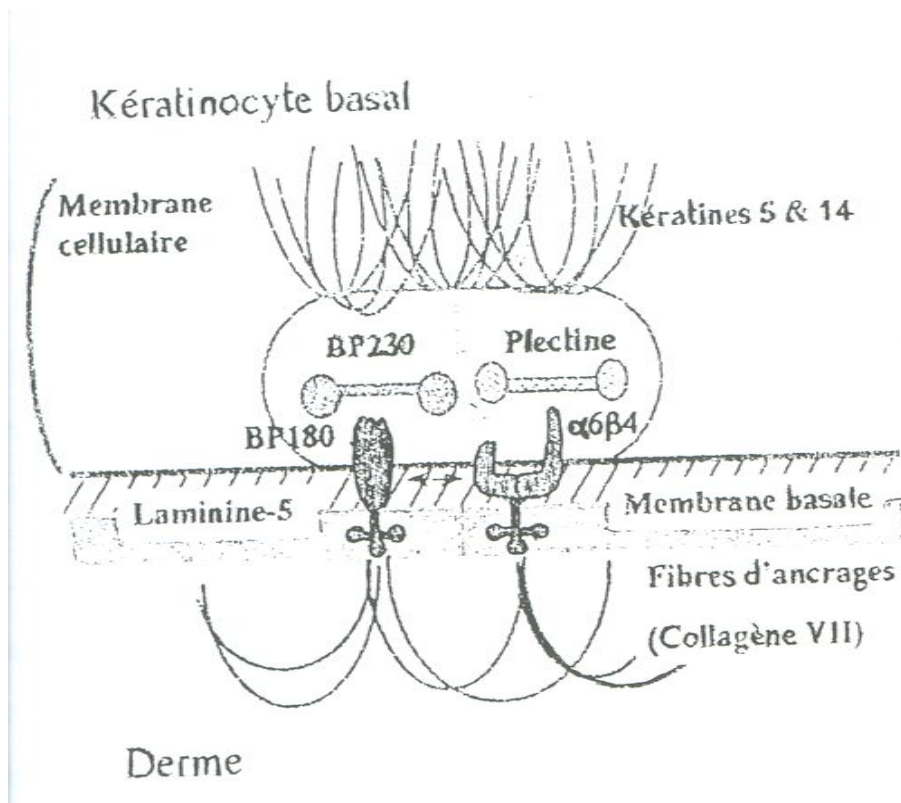


Schéma 12 : *Modèle schématique d'un hémidesmosome : les structures morphologiques et les constituants moléculaires (15).*

Ce groupe de protéines comprend :

- L'intégrine $\alpha_6\beta_4$: protéine hémidesmosomale localisée au pôle basal des kératinocytes basaux, elle structure la liaison entre les tonofilaments de kératine et la matrice extracellulaire de la membrane basale. L'extrémité cytoplasmique de l'intégrine $\alpha_6\beta_4$ s'associe aux autres molécules desmosomales (plectine, BPAG2, BPAG1), alors que son domaine extracellulaire s'attache à la laminine-5.
- L'antigène 2 de la pemphigoïde bulleuse « BPAG2 » dont le poids moléculaire est de 180 kDa d'où son nom BP180, ou encore collagène type XVII. Le BPAG2 est constitué d'un large domaine extracellulaire collagénique qui interagit avec la laminine-5, et d'un domaine intracellulaire non collagénique qui interagit avec la plectine, BPAG1 et l'intégrine. Le domaine extracellulaire contient un domaine NC 16A

localisé au niveau de la superficie de la lamina lucida (plaque dense sous basale), alors que le reste du domaine se trouve avec la laminine-5 dans la zone des filaments d'ancrage qui traversent la lamina lucida (LL) et se terminent dans la lamina densa (LD).

1.2.3.2.2 Les molécules de la lamina lucida (LL) et filaments d'ancrage

La lamina lucida (LL) est traversée par les filaments d'ancrage qui amarrent les hémidesmosomes à la lamina densa (LD). Les principaux constituants des filaments d'ancrage sont la laminine-5 et le domaine extracellulaire de la BPAG2 vu précédemment.

Les laminines sont une famille de glycoprotéine avec au moins 11 isoformes connus à ce jour, dont chacune est constituée de trois chaînes (α , β , γ). La jonction dermo-épidermique (JDE) contient la laminine-1 ($\alpha_1\beta_1\gamma_1$), la laminine-5 ($\alpha_3\beta_3\gamma_2$) précédemment connue comme nicéine, kalinine ou épiligrine, et enfin la laminine-6 ($\alpha_3\beta_1\gamma_1$). La laminine-5 se lie à la laminine-6 pour former un dimère.

La laminine-5 s'attache à l'intégrine $\alpha_6\beta_4$ au niveau de la plaque dense sous basale de la lamina lucida, puis déploie ses prolongements dans les filaments d'ancrage jusqu'à la superficie de la lamina densa (LD).

1.2.3.2.3 Les molécules de la lamina densa (LD)

La lamina densa est principalement composée de collagène type IV, mais également de laminines, de nidogènes et de protéoglycanes (héparane sulfate et chondroïtine sulfate). Les laminines forment un premier réseau moléculaire dans la lamina densa, le collagène IV, un second plus lâche et le nidogène relie le tout.

Le collagène IV proviendrait exclusivement des fibroblastes, et s'assemble en de courts filaments qui sont responsables du support et de la flexibilité de la membrane basale.

1.2.3.2.4 Les molécules de la sub-lamina densa et fibrilles d'ancrage

Les fibrilles d'ancrage sont constituées de dimères de collagène type VII. Ce dernier a un poids moléculaire de 290 kDa. Les fibrilles d'ancrage émanent de la lamina densa (LD) et s'étendent au derme. Ce qui solidifie la membrane basale. En fait, au niveau de la lamina densa (LD), la laminine-5 de filament d'ancrage se lie au collagène VII des fibrilles d'ancrage, puis ces dernières s'attachent au derme papillaire.

1.2.3.2.5 Autres composantes de la JDE

Il y a d'autres autoantigènes non encore identifiés sur le plan biochimique et moléculaire, on peut citer :

- antigène DIAL reconnu par les sérums de patients atteints de dermatose à IgA linéaire (97 kDa/120 kDa), décrit et considéré comme l'autoantigène spécifique de la maladie. Cependant, cette molécule est très proche de l'extrémité extracellulaire de l'antigène BP 180 (BPAG2), et pourrait être codée par le même gène (17).
- uncéine, protéine 105 kDa, protéine 125 kDa et protéine 200 kDa.

1.2.2.3 Rôle des molécules de la jonction dermo-épidermique (JDE) dans les dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI) sous épidermique

Les autoanticorps des DBAI sous épidermiques sont dirigés contre les molécules de la jonction dermo-épidermique (autoantigènes), occasionnant une perte de l'adhésion dermo-épidermique (9, 17, 18, 19, 20).

Chaque type de DBAI sous épidermique est défini par ses propres antigènes cibles. Ces antigènes sont : la BPAG1, la BPAG2, l'intégrine $\alpha_6\beta_4$, la laminine -5 et 6 et le collagène type VII.

Le tableau suivant résume, les antigènes cibles de la JDE reconnus par les autoanticorps selon chaque type de DBAI sous épidermique :

Tableau 2 :Dermatoses bulleuses auto-immunes sous épidermiques et leurs antigènes cibles de la jonction dermo-épidermique

DBAI sous épidermique	Molécule(s) cible(s)	Poids moléculaires (kDa)	Structure morphologique
Pemphigoïde bulleuse	BP 230 (BPAG 1)	230	Hémidesmosomes
	BP 180 (BPAG 2)	180	Hémidesmosomes - filaments d'ancrage (LL)
Pemphigoïde gravidique	BP 230 (BPAG 1)	230	Hémidesmosomes
	BP 180 (BPAG 2)	180	Hémidesmosomes - filaments d'ancrage (LL)
Pemphigoïde cicatricielle	Antigène DIAL	120/97	Filaments d'ancrage (domaine extracellulaire de BP 180)
	BP 230	230	Hémidesmosomes
	BP 180	180	filaments d'ancrage (LL)
	Collagène type VII	290	Fibrilles d'ancrage
Dermatose à IgA linéaire (DIAL)	BP 180 (BPAG 2)	180	Hémidesmosomes
	Laminine-5 ($\alpha_3\beta_3\gamma_2$)	165, 140, 105	filaments d'ancrage (LL)
	Laminine-6 ($\alpha_3\beta_1\gamma_1$)	165, 220, 200	Matrice extracellulaire
Epidermolyse bulleuse acquise	Collagène type VII	290	Fibrilles d'ancrage
Lupus érythémateux bulleux			
Dermatite herpétiforme	Inconnu		

1.2.4 Conclusion

L'IFD quant à elle permet de caractériser les antigènes en fonction de leur localisation cutanée (épidermique, sous épidermique ou vasculaire). En effet, elle permet de révéler des motifs antigéniques présents sur la peau par application d'anticorps spécifiques marqués, et donc de classer les dermatoses ayant un mécanisme immunologique selon la nature et le siège de ces anticorps fixés.

2. PRINCIPE ET TECHNIQUE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE (IFD) CUTANEE

2.1 Définition

L'immunofluorescence directe est une technique de marquage immunohistochimique, qui consiste à révéler des motifs antigéniques, présents sur une structure cellulaire ou tissulaire, par application d'anticorps (AC) spécifiques du motif antigénique à révéler, rendu préalablement fluorescents par couplage à un fluorochrome. Les AC se fixent sur l'Ag et persistent après lavage de la préparation (14, 21, 22, 23, 24). Les cinq anticorps utilisés en routine détectent les Ig A, les Ig G, les Ig M, les C1q et les C3.

Il faut opposer l'immunofluorescence directe à l'immunofluorescence indirecte (IFI), qui s'effectue à partir d'un sérum du malade à la recherche d'anticorps circulants.

Notre étude ne concernera que l'immunofluorescence directe cutanée.

2.2 Principes de la réaction d'immunofluorescence directe (IFD) cutanée

L'IFD cutanée fait intervenir deux acteurs principaux : les motifs antigéniques recherchés sur la biopsie cutanée et les anticorps spécifiques marqués qui servent à leurs identifications (14, 21, 25, 26).

2.2.1 Les motifs antigéniques recherchés à l'IFD ou épitopes

Ce sont des molécules du soi absentes de la peau normale, qui s'y déposent suite à un processus pathologique (dépôts immunoréactifs) : Il s'agit des immunoglobulines (Ig), de fractions de complément ou de fibrine dirigés contre des antigènes cutanés (autoantigènes), formant des complexes immuns, au cours des dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI), du lupus érythémateux ou des vascularites allergiques (14).

2.2.2 Les anticorps (Ac) spécifiques ou paratopes

Les anticorps (AC) sont des glycoprotéines reconnaissant de façon très spécifique et avec une affinité élevée les motifs antigéniques (épitopes) contre lesquels ils ont été produits. Le site de l'AC se liant à l'épitope antigénique est appelé « paratope » et se trouve au niveau des domaines hypervariables du fragment Fab. Les anticorps sont polyclonaux ou monoclonaux (14).

2.2.2.1 Anticorps polyclonaux (ACP)

Ils sont obtenus par immunisation d'un animal (lapin ou chèvre le plus souvent) par injections répétées de l'antigène purifié, puis par purification du sérum de l'animal. La production des ACP est rapide et simple. Cependant, ces réactifs ne sont pas totalement homogènes ni parfaitement reproductibles et peuvent contenir des anticorps contaminants présents dans le sérum des animaux ayant servi à leur production ; leur avidité pour l'antigène peut être faible.

2.2.2.2 Anticorps monoclonaux (ACM)

Ils sont généralement obtenus chez les souris par la technique des hybridomes. Ils sont sécrétés par un clone cellulaire immortalisé, résultant de la fusion d'une cellule myélomateuse avec un lymphocyte B de l'animal immunisé par l'antigène. Par rapport aux ACP, les ACM présentent les avantages suivants : ils sont homogènes et donc monospécifiques, reconnaissant un seul épitope, ils peuvent être produits en quantité illimitée (cellules immortalisées), enfin, en raison de la sélection des clones, l'immunogène servant l'immunisation des animaux peut ne pas être purifié. La production des ACM est assez longue et nécessite des moyens élaborés, ces réactifs sont donc plus onéreux que les ACP.

En IFD, les anticorps (Ac) spécifiques (paratopes) doivent avoir une affinité (pour les ACM) ou une avidité (pour les ACP) élevée, garantissant que l'Ac restera

fixé sur le motif antigénique recherché (épitope) pendant les étapes successives de la réaction de l'IFD, confirmant ainsi le processus auto-immun de la pathologie.

2.2.3 Les marqueurs fluorescents ou fluorochromes

Les fluorochromes sont des substances qui, excitées par la lumière ultraviolet (UV), émettent un rayonnement fluorescent visible. Ils sont couplés de façon covalente à l'anticorps spécifique et permettent, ainsi, de repérer le site de fixation de l'anticorps sur le motif antigénique recherché. Le microscope à fluorescence montre les motifs du tissu examiné grâce à un discret phénomène d'autofluorescence tissulaire, mais le motif antigénique où s'est fixé l'anticorps fluorescent apparaît beaucoup plus brillant et plus net (contraste net entre l'Ag recherché et le tissu voisin).

Les deux fluorochromes les plus utilisés sont l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) qui donne une fluorescence jaune verdâtre à 517 nanomètres, et l'isothiocyanate de rhodamine (RITC) qui donne une fluorescence rouge orangée à 580 nanomètres (14, 21).

2.2.4 Les types d'IFD cutanée (scéma13) :

L'IFD peut être à une ou plusieurs couches (21) :

- L'IFD à une couche : l'anticorps (AC), révélant le motif antigénique recherché, est lui-même marqué par la fluorescéine
- L'IFD à deux couches : l'anticorps révélant le motif antigénique n'est pas marqué, il est révélé par un deuxième anticorps lui-même marqué par la fluorescéine
- La méthode sandwich : destinée à objectiver un Ac fixé dans un tissu, utilise dans un premier temps, l'antigène spécifique à cet Ac qui se fixe sur lui, et dans un deuxième temps, les anticorps marqués révélateurs spécifiques de cet antigène.

- On peut avoir recours à la protéine A du staphylocoque doré pour remplacer un anticorps marqué anti-anticorps humains.
- Le double marquage utilise simultanément deux anticorps différents de spécificité distincte, l'un marqué à la fluorescéine, l'autre à la rhodamine. L'emploi de filtres différents met en évidence alternativement l'une ou l'autre fluorescence. On peut ainsi démontrer que le même type cellulaire est porteur de deux antigènes distincts.

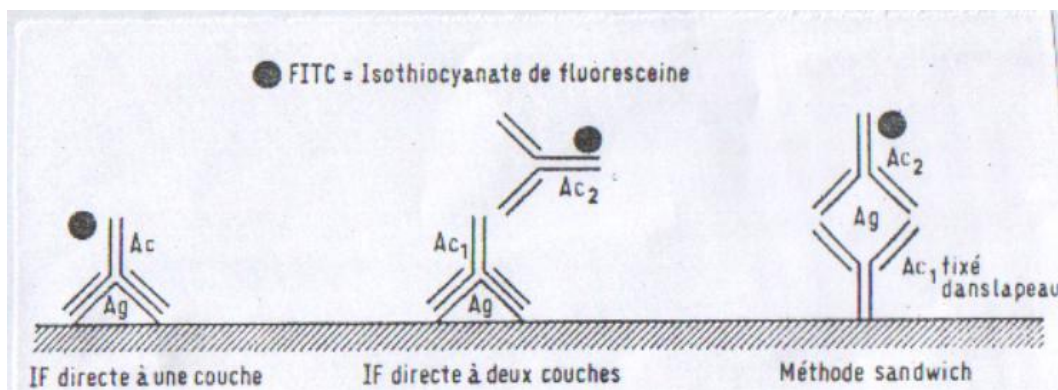


Schéma 13 : Techniques de l'IFD (15).

2.3 Les difficultés de la technique:

Le marquage doit être spécifique. On doit donc :

- Faire des témoins/contrôles négatifs et positifs pour s'en assurer.
- Etablir la spécificité de l'anticorps par des témoins : l'anticorps doit identifier une seule molécule.
- avoir une bonne affinité pour les tissus.
- accéder aux sites antigéniques car ces sites sont enfouis dans les tissus et rares (méthodes de démasquage des sites antigéniques).
- préserver les sites antigéniques : la fixation peut altérer ces sites d'où des modifications.

2.4 Technique de l'immunofluorescence directe cutanée (IFD)

2.4.1 Siègne du prélèvement

La qualité du prélèvement est fondamentale pour un examen en IFD. Les biopsies doivent être suffisamment larges (3 à 5 mm) et profondes (jusqu'à l'hypoderme) faites au bistouri ou au trépan, et le site biopsique doit varier en fonction du diagnostic. Ainsi, dans les maladies bulleuses, la biopsie doit être faite au niveau de la peau périlésionnelle (et non la bulle elle-même), à quelques millimètres du bord de la bulle (ne dépassant pas un centimètre), généralement en peau saine. (14, 21, 22, 27, 28).

2.4.2 Fixation et transport du fragment biopsié :

2.4.2.1 Transport :

Dés que le prélèvement biopsique est réalisé, l'acheminement au Laboratoire d'Anatomie Pathologique peut se faire de deux manières (14, 21, 29) :

- Immédiatement (Laboratoire à proximité) dans une compresse imbibée de sérum physiologique
- Dans du liquide de Michel qui est un milieu de transport spécial (Solution de sulfate d'ammonium tamponnée). Ce milieu permet d'acheminer vers le laboratoire spécialisé le fragment biopsique à température ambiante pendant plusieurs jours (deux à dix jours), donnant des résultats comparables à l'acheminement immédiat. Avant d'être fixé, le fragment sera rincé avec une solution tampon neutre.

2.4.2.2 Fixation

Au laboratoire, le fragment destiné à l'IFD subit immédiatement une fixation par le froid (congélation). Il est placé dans un tube, dans un récipient en plastique ou dans un petit réceptacle en aluminium avant d'être plongé dans l'azote liquide et stocké à

-20°C (quelques mois) ou mieux à -70°C (30, 14, 28).

La congélation est une étape indispensable à la préparation des échantillons à étudier, elle a pour but (14) :

- de conserver une bonne antigénicité tissulaire.
- d'augmenter la rigidité tissulaire indispensable à la coupe.

Mais la congélation ne permet pas une bonne conservation histologique, elle est donc peu recommandée pour les cas où l'analyse morphologique est importante.

2.4.2.3 Réalisation de la technique de l'IFD cutanée

La biopsie cutanée congelée est sectionnée en coupes de 4 à 6 microns au cryostat, puis les coupes sont placées sur lames et congelées à -50°C (21, 26, 30).

Au moment de la technique :

- Sortir les lames du congélateur et les sécher 5 min à l'air ou au ventilateur
- Fixer les coupes 10 mn à l'acétone à +4°C
- Sécher les coupes 2 mn à l'air
- Laver dans un tampon phosphate salé (P.B.S) pH 7,2 pendant 10 mn
- Incuber avec les conjugués fluorescents centrifugés : anticorps fluorescents, anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C3, et antiC1q. Cette incubation dure 30 min à température ambiante et à l'obscurité. Chaque conjugué est appliqué sur une lame à part.
- Laver dans du tampon P.B.S P pH 7,2 deux fois 15 mn pour éliminer les réactifs non liés
- Monter les lames à la glycérine tamponnée et les laisser à l'obscurité jusqu'à la lecture

L'observation se fait au microscope optique équipé d'une source de rayonnement UV et de filtres d'excitation et d'arrêt convenable pour le type de fluorochrome utilisé. La fluorescence observée est labile, imposant la photographie des aspects significatifs et un équipement en conséquence du microscope à fluorescence.

2.5 Lecture des coupes

2.5.1 Type de fluorescence

Quatre types de fluorescence peuvent être observés (14, 21, 24)

2.5.1.1 Le marquage spécifique recherché

Le marquage spécifique recherché est appelé aussi immunofluorescence vraie. Il est dû à l'anticorps marqué spécifique utilisé pour l'examen, et fonction de la présence du substrat antigénique où il se fixe, de la concentration en anticorps et de la concentration en fluorescéine.

2.5.1.2 Les fluorescences parasites

La lecture des coupes est perturbée par des types de « fluorescences parasites » dont les mécanismes sont plus ou moins expliqués :

- L'autofluorescence : c'est le nom donné à la fluorescence naturelle des tissus non traités soumis aux ultraviolets (UV) et au système optique utilisé. Elle est particulièrement marquée au niveau de la couche granuleuse, des fibres de collagène ou de l'élastine. Cette autofluorescence est liée à l'antigénicité du tissu qui est définie comme la capacité de ce dernier à fixer les anticorps. L'antigénicité d'un tissu dépend de la nature physicochimique, de la structure tridimensionnelle de l'antigène, et peut être altérée par les processus de préparation de l'échantillon.
- Le marquage non spécifique : ou « bruit de fond », on l'attribue à la présence de fluorochromes libres dans le tissu investigué et à la capacité des composants tissulaires à créer des liaisons ioniques sans spécificité.
- Le marquage spécifique non désiré : dû à la présence d'anticorps excédentaires dans les immunoglobulines marquées utilisées pour cette étude (problème de la pureté des réactifs).

2.5.1.3 Interprétation

Elle est inéluctablement empreinte de subjectivité :

- La distinction entre une immunofluorescence vraie et une fluorescence parasite, requiert une certaine expérience. Il s'agit là d'une première étape de lecture, visant à affirmer la réalité d'un marquage et sa topographie. Il existe sans doute des variations dans l'interprétation des fluorescences fines, et discrètes, méconnues par certains observateurs, interprétées comme non spécifiques par d'autres, ou comme positives par d'autres encore. Ceci peut expliquer en partie la variabilité des résultats de l'IFD dans la littérature.
- Le diagnostic évoqué par l'IFD dépend des critères suivants (22, 27, 28) :
 Le site principal des dépôts immuns et leur immunomorphologie (linéaire, granulaire, fibrillaire, continu, discontinu ...)
 L'existence d'un autre site de dépôt en plus du site principal.
 La composition des dépôts : classe des immunoglobulines (Ig), complément et fibrine.
 Le nombre des dépôts immuns, et si multiples la nature du dépôt le plus intense.
- La dernière étape consiste en une confrontation du résultat de l'IFD avec le contexte clinique, histologique et biologique. Celle-ci permettra d'intégrer les données de l'IFD dans son cadre pathologique et de poser le diagnostic.
-

2.6 Sensibilité de l'IFD et contrôle positif

La sensibilité de l'IFD est définie par la quantité minimale de motifs antigéniques pouvant être détectée par cette technique. Une bonne sensibilité de l'IFD cutanée dépend de différents facteurs : respect du site approprié de la biopsie, fixation et transport correct de l'échantillon, technique rigoureuse et lecture des

lames sans retard. Des difficultés dans l'une de ces étapes peuvent causer la survenue d'IFD « faux-négatives » (14, 27).

En pratique, il est indispensable de posséder un contrôle positif qui permet d'évaluer la sensibilité de chaque expérience. En IFD, le meilleur contrôle est interne, représenté par des cellules de la peau normale adjacente connues pour exprimer l'antigène recherché, sinon, une coupe d'un autre tissu contenant le motif antigénique peut également être utilisée (64).

2.7 Spécificité de l'IFD et contrôle négatif

Elle correspond à la détection réelle du motif antigénique recherché. Elle doit être soigneusement vérifiée, car il existe plusieurs causes de réactivités faussement positives (fluorescences parasites). La vérification de la spécificité de l'IFD, ou contrôle négatif, est très importante mais quelques fois difficile à obtenir. La méthode la plus rigoureuse est la préincubation de l'anticorps spécifique avec l'antigène purifié qui doit abolir l'immunoréactivité de l'anticorps utilisé ensuite dans la réaction d'IFD. Cette méthode étant très difficilement réalisable, on se contente en pratique de la substitution de l'anticorps spécifique avec un anti-sérum non immun, ce qui doit conduire également à une absence de réactivité (64).

2.8 Inconvénients et remèdes de l'IFD cutanée

L'IFD cutanée présente quelques inconvénients auxquels on pourrait remédier (14, 21) :

- Nécessité d'utiliser des tissus frais et congelés.
- Décroissement rapide de la fluorescence lors de l'exposition des coupes à la lumière UV (fading), peut être partiellement palliée par l'utilisation de

milieux de montage spéciaux contenant des agents antioxydants, comme la p-phénylène diamine ou le n-propylgallate.

- Absence d'examen histologique conventionnel de la coupe, auquel on peut remédier par la coloration de la coupe congelée par l'hématoxyline-éosine-safran. Mais la qualité des coupes obtenues après fixation dans le liquide de formol reste meilleure, d'où la pratique simultanée de l'histologie conventionnelle et de l'IFD.
- Présence relativement fréquente, au sein des tissus, de substances fluorescentes pouvant être confondues avec la fluorescence spécifique. Une contre coloration au bleu d'Evans efface en grande partie ces fluorescences parasites.
- Coût élevé.

2.9 Techniques spéciales

2.9.1 IFD sur peau clivée par le NaCl (schéma 14) :

Son principe consiste à réaliser une IFD sur la peau périlésionnelle du patient, après séparation dermo-épidermique par le NaCl (29, 31): l'incubation dans 1 mole de NaCl à 4°C pendant environ 3 jours induit un clivage au niveau de la lamina lucide (LL). Ainsi, les antigènes de la zone de JDE sont mieux exposés (schéma 14).

L'intérêt est donc de rendre la méthode plus sensible et d'autre part, de voir si les dépôts d'Ig sont accrochés sur le versant dermique (plancher) ou épidermique (toit) du clivage.

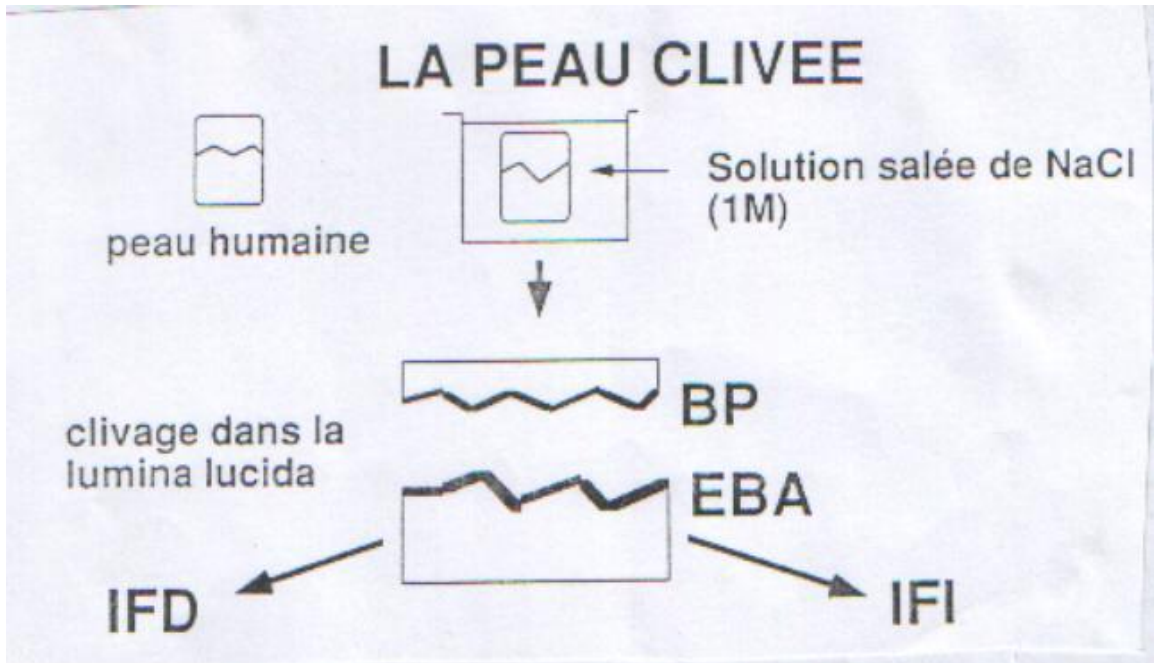


Schéma 14 (21): technique de l'immunofluorescence sur peau clivée.

2.9.2 Autres techniques

Ce sont des techniques plus sophistiquées, plus coûteuses et d'utilisation rare. Elles se basent sur la localisation précise des antigènes cibles.

2.9.3 L'Immunomicroscopie électronique (IME)

Le principe de l'IME est similaire à celui de l'IF. La différence essentielle entre les deux réside dans le choix du marqueur qui doit être opaque aux électrons pour être visible en microscopie électronique à transmission (peroxydase de raifort, or colloïdal). Comme l'IF, elle peut se faire en technique directe sur la peau du malade. La technique la plus utilisée actuellement est réalisée extemporanément sans congélation préalable de la biopsie. L'IME peut se faire également en indirecte en testant le sérum du patient sur une peau normale (29).

2.9.4 L'Immunotransfert (Immunoblotting ou Western blot)

Son principe est, dans un premier temps, de faire migrer des protéines obtenues, par exemple, à partir d'un fragment de tissu (ici la peau), dans un gel d'électrophorèse qui les sépare selon leur poids moléculaire. Dans un deuxième temps, les protéines ainsi séparées sont transférées sur un papier de nitrocellulose qui sert alors de réactif. Il suffit ensuite d'incuber le papier de nitrocellulose avec le sérum à tester (où l'on recherche des anticorps). Si ce sérum contient, par exemple, des anticorps contre les protéines épidermiques dont le poids moléculaire est de 220 KD, ceux-ci se fixent sur celle-là. Au stade suivant, lorsqu'on incube le papier de nitrocellulose avec un sérum anti-immunoglobuline humaines marquées par une enzyme (ex : peroxydase), une ligne de précipité devient visible au niveau de protéines de PM 220 KD (29).

L'intérêt de l'Immunotransfert est double. D'une part, il est souvent plus sensible que l'immunofluorescence, d'autre part, il permet une meilleure distinction des maladies bulleuses sous épidermiques. C'est pourquoi, il est de plus en plus utilisé pour le diagnostic des maladies cutanées auto-immunes.

2.9.5 SYNTHÈSE :

L'immunofluorescence directe (IFD) est une technique simple, permettant de visualiser un complexe antigène - anticorps en le marquant par un fluorochrome.

Son apport considérable en pathologie cutanée, surtout dans le diagnostic des dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI), du lupus et des vascularites allergiques, nécessite une rigueur dans le choix du site du prélèvement, dans le transport et dans la technique.

Ses inconvénients sont liés à toutes les causes de « fluorescence parasites » qui peuvent en rendre l'interprétation délicate. La fluorescence s'éteignant avec le temps, le recours aux documents photographiques systématiques s'impose.

MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS

1.1 Malades

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au laboratoire d'Anatomie Pathologique au CHU HASSAN 2 de Fes sur une période de 2 ans (2010 et 2011).

Cette étude a été réalisée à partir des comptes-rendus anatomopathologiques des biopsies cutanées dont l'immunofluorescences directe (IFD) a été réalisée à la demande des cliniciens et ce lors de dermatoses bulleuses. L'étude des dossiers cliniques des patients sélectionnées a été réalisée au service de Dermatologie. Nous avons exclu de cette étude les cas dont les dossiers cliniques n'ont pas été retrouvés ou incomplets. Ainsi nous avons retenu 43cas .

1.2 Prélèvements tissulaires

Pour chaque patient, deux biopsies cutanées sont réalisées dans le cadre d'une approche diagnostique, l'une pour une étude histologique, et l'autre pour une IFD.

Le site de la biopsie n'est pas toujours précisé

Néanmoins, le site de la biopsie mentionné était comme suit :

- La peau périlésionnelle en cas de maladies bulleuses,
- La peau lésée en cas de lupus érythémateux ou vascularites.

Dès que le prélèvement biopsique a été réalisé, le fragment destiné à l'IFD est acheminé immédiatement au laboratoire d'Anatomie Pathologique où il est immédiatement congelé dans de l'azote liquide et conservé dans un congélateur à moins 80 degré. Le fragment destiné pour l'étude histologique est fixé dans du formol tamponné à 10%

2. METHODES D'ETUDE :

Les dossiers ont été recueillis dans le service de Dermatologie. Et une fiche d'exploitation est dressée :

Identité :	
Nom et prénom :	Sexe :
IP :	Milieu :
Num de dossier :	Niveau socio-économique :
Age :	Mutuelle :
Antécédents :	
Medicaux :	
Chirurgicaux :	
Familiaux :	
Nature de dermatose (diagnostic clinique)	
Diagnostic histologique :	
Résultats de L'IFD :	
Diagnostic retenu :	

Nous avons corrélé les résultats de l'IFD avec les diagnostics initiaux établis sur des critères cliniques, biologiques et même histologiques. Le but est d'évaluer l'apport diagnostique de l'IFD dans les différentes dermatoses bulleuses.

RESULTATS

1. CARACTERISTIQUES CLINIQUES GENERALES

1.1 Age

La moyenne d'âge était de 50,7 ans, avec des extrêmes allant de 12 ans à 90 ans.

1.2 Sexe

On a noté une légère prédominance féminine : 62% de femmes (42/68), et 38% d'hommes (26/68).

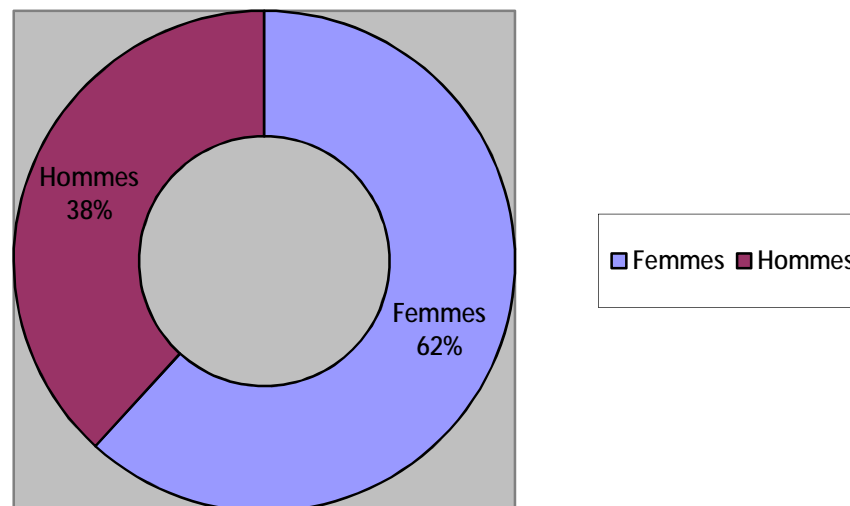


Figure1 : répartition selon le sexe

2. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DES DERMATOSES BULLEUSES :

Tableau 03 :Age et sexe dans la pemphigoïde bulleuse

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	32	90	60,53

Sexe	n	% (n/15)
Féminin	05	33,33%
Masculin	10	66,66%
Total	15	100%

Tableau 04 : Age et sexe dans le pemphigus

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	43	80	57,92

Sexe	n	(n/13) %
Féminin	11	84,6%
Masculin	02	15,4%
Total	13	100%

Tableau 05 : Age et sexe dans l'Epidermolyse Bulleuse Acquise

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	12	36	26
<hr/>			
Sexe		n	(n/03) %
Féminin		02	66,66%
Masculin		01	33,33%
Total		03	100%

Tableau 06 : Age et sexe dans le Lupus Bulleux

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	24	41	32,66
<hr/>			
Sexe		n	(n/03) %
Féminin		02	66,66%
Masculin		01	33,33%
Total		03	100%

Tableau 07 : Age et sexe dans le Pemphigoïde gestationnelle

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	21	37	30

Sexe	n	(n/03) %
Féminin	03	100%
Masculin	00	00%
Total	03	100%

Tableau 08 : Age et sexe dans la pemphigoïde cicatricielle

Age (ans)	53
-----------	----

Sexe	n	(n/01) %
Féminin	01	100%
Masculin	00	00%
Total	01	100%

Tableau 09 : Age et sexe dans la toxidermie

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	12	75	39,11

Sexe	n	(n/03) %
Féminin	02	66,66%
Masculin	01	33,3%
Total	03	100%

Tableau 10 : Age et sexe dans l'Erythème polymorphe

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	12	75	39,11

Sexe	N	(n/01) %
Féminin	00	00%
Masculin	01	100%
Total	01	100%

Tableau 11 : Age et sexe dans le Prurigo

	Minimum	Maximum	Moyenne
Age (ans)	12	75	39,11

Sexe	n	(n/1) %
Féminin	01	100%
Masculin	00	00%
Total	01	100%

3. DIAGNOSTIC CLINIQUE

Les dermatoses bulleuses étaient réparties en dermatose bulleuse auto-immune et non auto-immune.

Tableau 12 : Répartition clinique des DB en DBAI et DB non AI

Diagnostic clinique de DB	n	% dans DB (n/44)
DBAI	37	84
DB non AI	07	16
Total	44	100%

3.1 Dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI)

D'après le diagnostic clinique les dermatoses bulleuses auto-immunes représentent 84% du total des dermatoses. Ce tableau résume la répartition des cas évoquant cliniquement une DBAI :

Tableau 13 : Répartition clinique des DBAI

Diagnostic clinique de DBAI	n	% DBAI (n/37)	% DB (n/44)
Pemphigus (P)	15	40,5	34
Pemphigoïde bulleuse (PB)	11	29,8	25
Epidermolyse bulleuse (EBA)	03	8,1	6,8
Dermatite herpétiforme (DH)	03	8,1	6,8
Lupus bulleux	03	8,1	6,8
Pemphigoïde gestationnelle	02	5,4	4,6
Total	37	100%	84%

3.2Dermatoses bulleuses non auto-immunes (DB non AI)

Dans 07/44 des dermatoses bulleuses (DB), le tableau clinique était celui d'une DB non AI. Ce tableau résume la répartition des cas évoquant cliniquement une DB non AI :

Tableau 14 : Répartition clinique des DB non AI

Diagnostic clinique de DB non AI	n	% DB non AI (n/07)	% DB (n/44)
Toxidermie bulleuse	03	42%	6,8%
Impétigo herpétiforme	02	28,5%	4,6%
Erythème polymorphe	01	14,25%	2,3%
Prurigo bulleux	01	14,25%	2,3%
Total	07	100%	16%

4. RESULTATS HISTOLOGIQUES :

Les dermatoses bulleuses étaient réparties en dermatoses bulleuses auto-immunes et dermatoses bulleuses non auto-immunes comme suit :

Tableau 15 : Répartition des diagnostics histologiques des DB en DBAI et DB non AI

Diagnostic histologique d'une DB	n	% (n/39)
DBAI	33	84,6%
DB non AI	6	15,4%
Total	39	100%

Les DBAI représente 84,6% du total des dermatoses. Les DB non AI représentent 15,4%.

4.1 Dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI) :

Tableau 16 : Répartition diagnostics histologiques des DBAI

Diagnostic histologique de DBAI	n	% DBAI (n/33)	% DB (n/39)
PB	13	39,5%	33,4%
Pemphigus	14	42,5%	35,9%
EBA	2	06%	5,15%
Pemphigoïde gestationelle	2	06%	5,15%
Pemphigoïde cicatricielle	01	03%	2,5%
Lupus bulleux	01	03%	2,5%
Total	33	100%	84,6%

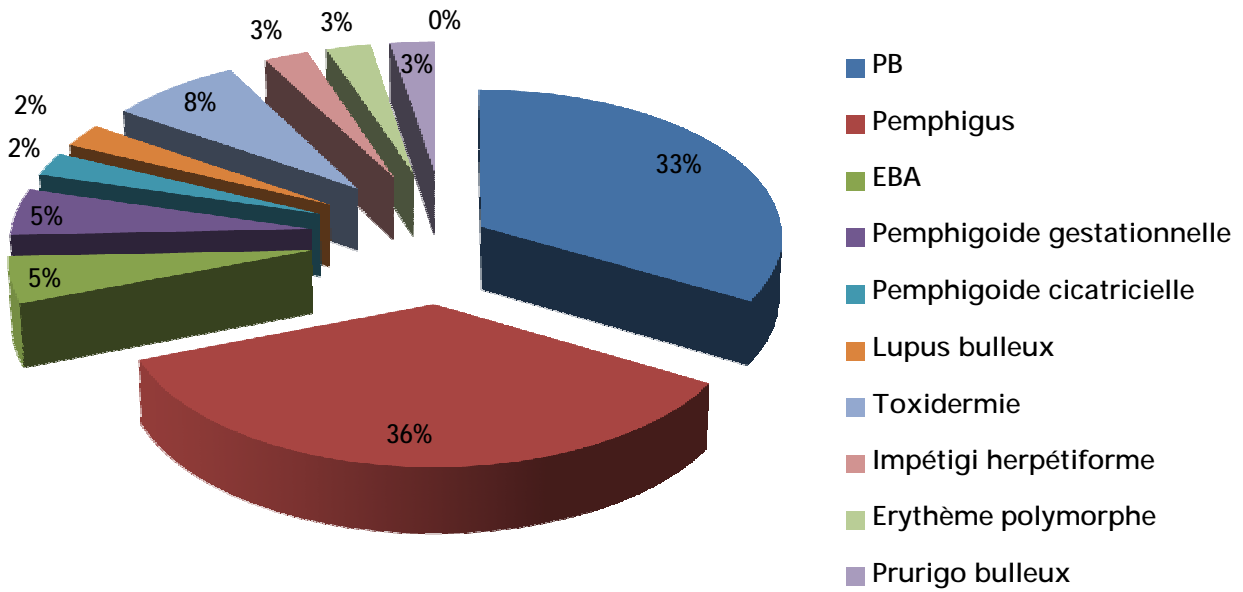
Le diagnostic histologique d'un pemphigus était le plus évoqué avec 14 cas ce qui représentait 42,5% du total des DBAI ; suivi de la pemphigoïde bulleuse avec 13 cas ce qui représente 39,5% du total des DBAI.

4.2 Dermatoses bulleuses non auto-immunes (DB non AI) :

Tableau 17 : Répartition diagnostics histologiques des DB non AI

Diagnostic histologique de DB non AI	n	% DB non AI (n/06)	% DB (n/39)
Toxidermie	03	50%	7,6%
Impétigo herpétiforme	01	16,65%	2,6%
Erythème polymorphe	01	16,65%	2,6%
Prurigo bulleux	01	16,65%	2,6%
Total	06	100%	15,4%

Figure 2 : Graphique montrant la répartition des diagnostics histologiques :



5. RESULTATS DE L'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE (IFD)

CUTANEE :

Les DBAI dont l'immunofluorescence directe était positive sont 35 cas et négative sont 8 cas.

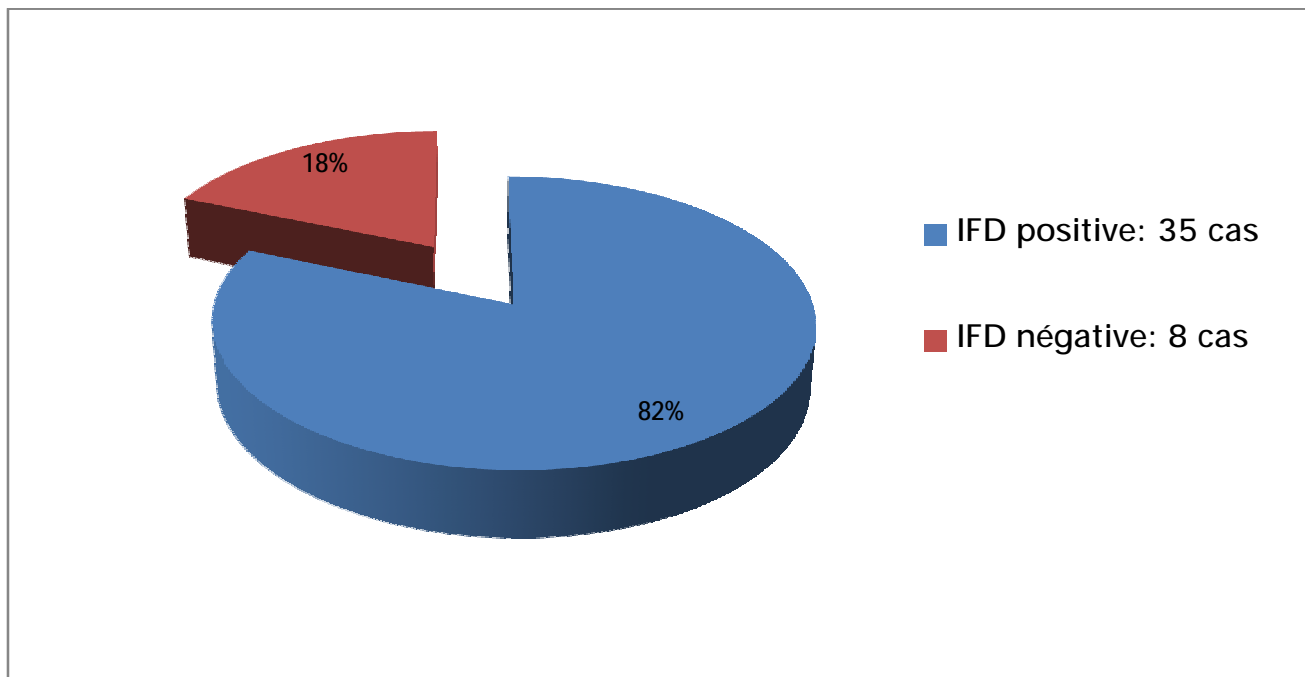


Fig 3 : *Grafique montrant la répartition des Résultats de l'IFD cutanée (43 cas)*

5.1 IFD cutanée Positive

L'IFD est dite « positive » lorsqu'il existe un dépôt immunitaire au niveau de la peau. Les IFD positives représentent 35 cas. Les résultats sont répartis comme suit :

Tableau 14 : Répartition selon le résultat positif de l'IFD

IFD positive	n	% IFD (+) (n/37)
Pemphigoïde bulleuse	14	43,24%
Pemphigus	11	29,73%
Epidermolyse bulleuse acquise	03	8,11%
Lupus bulleux	03	8,11%
Pemphigoïde gestationnelle	03	8,11%
Pemphigoïde cicatricielle	01	2,70%
Total	35	100%

La pemphigoïde bulleuse représente le premier diagnostic à l'IFD avec 43,24% suivi du pemphigus avec 29,73% du total des IFD positive.

5.2 IFD cutanée négative

Une IFD cutanée « négative » se définit par l'absence de dépôts immuns au niveau de la peau. Les IFD négatives étaient au nombre de 8 cas et représentent 18% du total des cas étudiés.

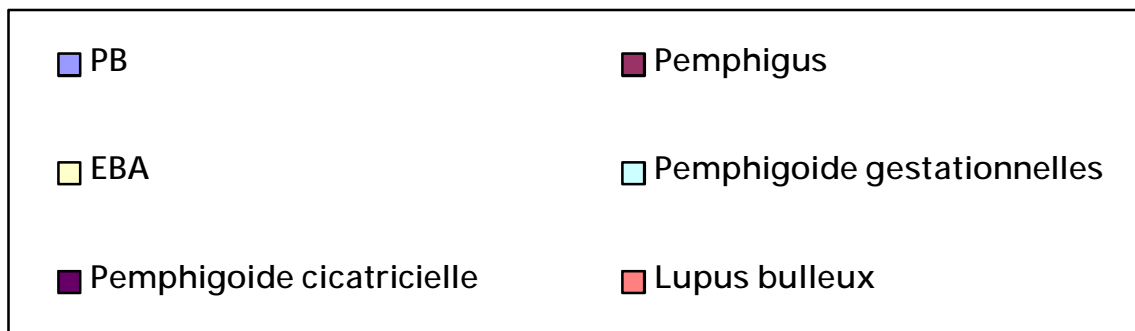
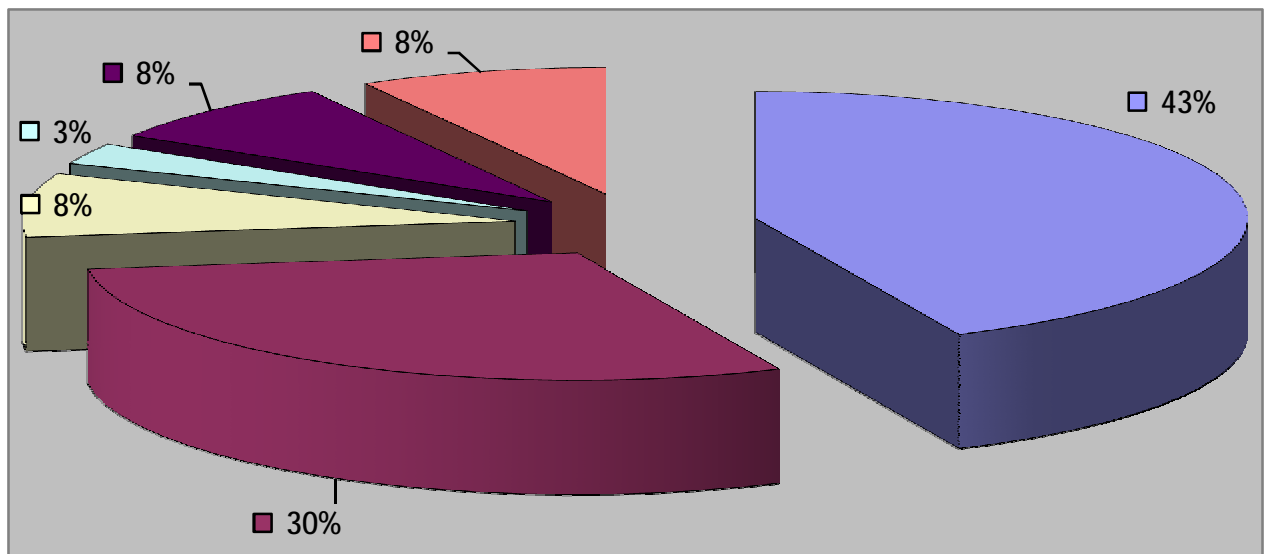


Figure 4 : Graphique montrant la répartition des résultats de l'IFD :

6. DIAGNOSTIC FINAL RETENU

Les critères pris en compte pour retenir un diagnostic final était des critères cliniques, paracliniques, histologiques et sur les données de l'IFD.

Les dermatoses bulleuses sont réparties en deux groupes. Les DBAI avec 38 cas et représentent 55,8% du totale des cas étudiés. Les DB non AI avec 05 cas et représentent 4,2% de total des cas.

6.1 Les DBAI retenues

Les dermatoses bulleuses auto-immunes représentent 88% du total des cas de dermatoses bulleuses retenus.

Tableau 15 : répartition des cas retenus de DBAI

DBAI retenus	n	% DBAI (n/38)
Pemphigoïde bulleuse	15	39,6%
Pemphigus	13	34,1%
Epidermolyse bulleuse	03	7,9%
Pemphigoïde gestationnelle	03	7,9%
Lupus bulleux	03	7,9%
Pemphigoïde cicatricielle	01	2,6%
Total	38	100%

Les pemphigus sont répartis en quatre groupes. Les Pemphigus vulgaires avec 08 cas, les Pemphigus foliacés avec 02 cas, les Pemphigus séborrhéiques avec 02 cas et le Pemphigus hépétique avec un seul cas.

6.1.2 Les DB non AI retenues:

Les DB non AI représentent 12% des DB et se répartissent comme suit :

Tableau 16 :répartition des cas retenus de DB non AI

DB non AI	n	% DB non AI (n/5)
Toxidermies	03	60%
Erythème polymorphe	01	20%
Prurigi bulleux	01	20%
Total	5	100%

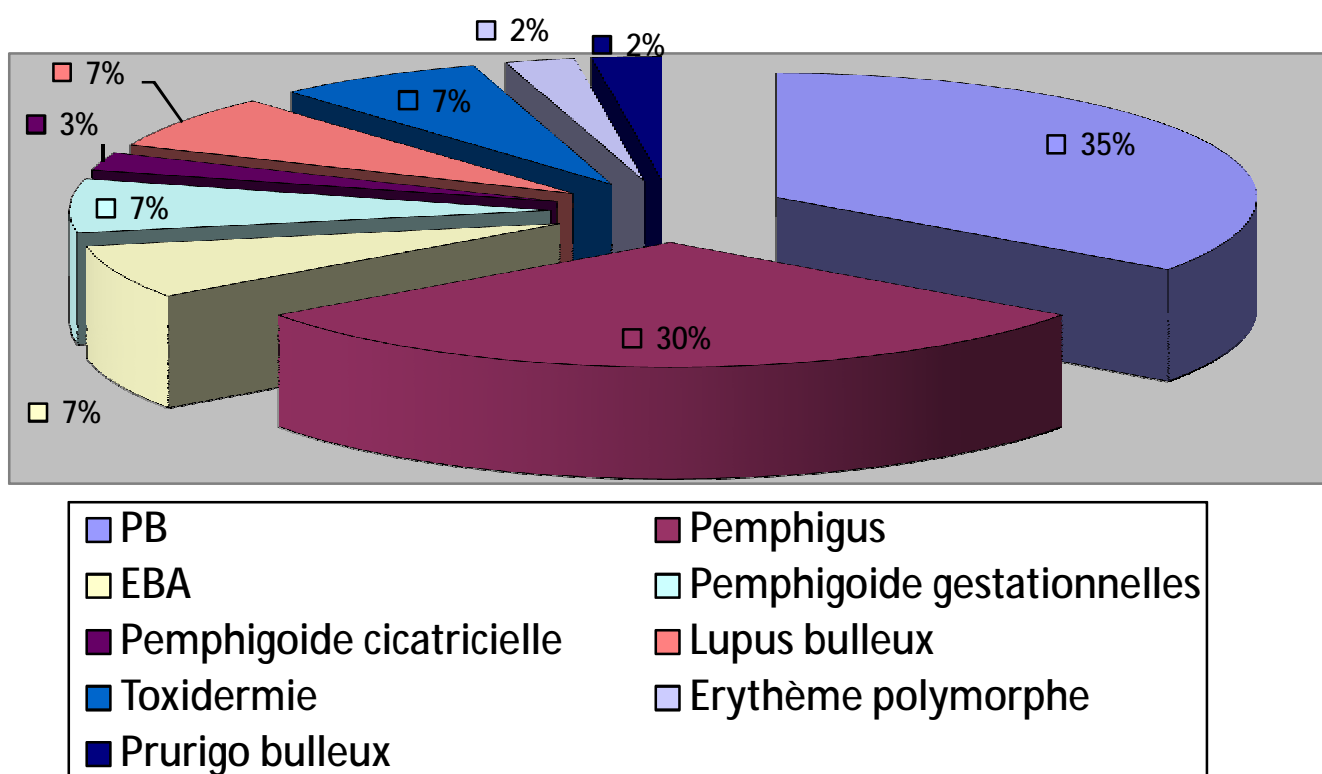


Figure 5 : graphique montrant la répartition des diagnostics finaux

7. CONFRONTATION DU DIAGNOSTIC FINAL RETENU AVEC LE DIAGNOSTIC CLINIQUE, HISTOLOGIQUE ET L'IFD CUTANEE :

7.1 Les dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI)

7.1.1 Pemphigoïde bulleuse (PB) (Tableau 17)

Les pemphigoïde bulleuses retenues étaient au nombre de 15 cas.

Les IFD + en faveur d'une pemphigoïde bulleuse étaient au nombre de 14 soit 93% du total des pemphigoïdes bulleuses.

Les histologies compatibles avec une pemphigoïde bulleuses étaient au nombre de 11 soit 73,33%

Et les cas dont la symptomatologie était compatible avec une pemphigoïde bulleuse étaient au nombre de 09 cas soit 60%.

Tableau 17

Clinique	Histologie	IFD	n	(n/15)
+	+	+	07	46,6%
+	+	-	01	6,66%
+	-	-	00	00%
-	+	+	03	20%
-	+	-	00	%
-	-	+	03	20%
+	-	+	01	6,66%
Total			15	100%

7.1.2 Pemphigus (Tableau 18)

Le Pemphigus représente le diagnostic de 13 cas du total de nos patients soit 30,2 % du total de nos patients.

Tableau 18 : Corrélation des IFD positives avec la clinique et l'histologie dans le pemphigus

Clinique	Histologie	IFD	n	(n/13)
+	+	+	08	61,6%
+	+	-	01	7,7%
+	-	-	00	00%
-	+	+	02	15,4%
-	+	-	01	7,7%
-	-	+	01	7,7%
+	-	+	00	00%
Total			13	100%

7.1.3 Epidermolyse bulleuse acquise (EBA) (Tableau19)

Les cas retenus d'Epidermolyse bulleuse sont au nombre de 03 cas répartis comme suit dans le tableau suivant :

Clinique	Histologie	IFD	n	(n/03)
+	+	+	02	66,66%
-	-	+	01	33,33%
+	-	-	00	100%
-	+	+	00	00%
-	+	-	00	00%
+	-	+	00	00%
+	+	-	00	00%
TOTAL			03	100%

7.1.4 Pemphigoïde gestationnelle (Tableau 20):

Les cas de Pemphigoïde gestationnelle sont au nombre de 03 cas.

Clinique	Histologie	IFD	n	(n/03)
+	+	+	02	66,66%
-	-	+	01	33,33%
+	-	-	00	00%
-	+	+	00	00%
-	+	-	00	00%
+	-	+	00	00%
+	+	-	00	00%
TOTAL			03	100%

7.1.5 Lupus bulleux (Tableau 21):

Clinique	Histologie	IFD	n	(n/03)
+	+	+	02	66,66%
+	-	+	01	33,33%
+	-	-	00	00%
-	+	+	00	00%
-	+	-	00	00%
-	-	+	00	00%
+	+	-	00	00%
TOTAL			03	100%

7.1.6 Pemphigoïde cicatricielle :

Un seul cas de Pemphigoïde cicatricielle a été retenu et pour lequel seul l'IFD était positive alors que la clinique et l'histologie orientaient vers d'autres diagnostics.

7.2 Les dermatoses bulleuses non auto-immunes (DB non AI):

7.2.1 Toxidermie bulleuse : 3 cas

Trois cas de toxidermies ont été retenus. La moyenne d'âge était de 63 ans avec 02 hommes et une femme. Chez les 03 cas la clinique et l'histologie étaient compatibles avec une toxidermie avec une IFD compatible également et qui est classiquement négative.

7.2.2 Prurigo bulleux : 01 cas

Il s'agit d'une femme de 22 ans pour laquelle le diagnostic était posé grâce à la clinique, l'histologie et l'IFD qui était négative.

7.2.3 Erythème polymorphe : 1 cas

Le seul cas retenu d'érythème polymorphe était celui d'un homme de 74 ans qui avait une IFD négative, une clinique et une histologie orientant vers un érythème polymorphe.

DISCUSSION

1. LES DERMATOSES BULLEUSES AUTO-IMMUNES (DBAI)

Les DBAI sont secondaires à une atteinte des différents systèmes de jonction Interkératinocytaires ou de la jonction dermo-épidermique (JDE). Parmi les DBAI, on distingue, en fonction du site de clivage :

- les DBAI sous-épidermiques, avec perte de l'adhésion dermo-épidermique par altération d'un des composants de la JDE par des autoanticorps.
- les DBAI intraépidermiques (groupe des pemphigus) où la perte de cohésion des kératinocytes (acantholyse) est due à l'altération des desmosomes par des autoanticorps.

1.1 Dermatoses bulleuses auto-immunes (DBAI) sous-épidermiques

Le groupe des DBAI sous-épidermiques est divisé en :

- la pemphigoïde bulleuse (PB)
- la pemphigoïde cicatricielle (PC)
- la pemphigoïde gravidique (PG) ou Herpes Gestationis (HG)
- l'épidermolyse bulleuse congénitale (EBC)
- la dermatite herpétiforme (DH)
- la dermatose à IgA linéaire (DIAL)
- le lupus bulleux

1.1.1 La Pemphigoïde bulleuse (PB)

C'est la plus fréquente des dermatoses bulleuses auto-immunes et représente 70% des DBAI sous-épidermiques. Elle touche surtout les sujets âgés, de plus de 70 ans, sans prédominance de sexe ni de race (32, 33, 34, 35, 36, 19). Cependant, cette affection peut aussi toucher les enfants, ce qui reste néanmoins exceptionnel.

Dans notre série, l'âge moyen de la pemphigoïde bulleuse était de 55 ans, avec une nette prédominance masculine.

1.1.1.1 Aspect clinique (47):

Débute par un prurit généralisé, par des placards eczématiformes ou urticariens. L'Éruption caractéristique est une bulle tendue, à contenu clair, souvent de grande taille, siégeant sur base érythémateuse eczématiforme, urticarienne ou peau saine.

Les lésions sont symétriques avec une prédilection pour les faces de flexion et la racine des membres, la face antéro-interne des cuisses et l'abdomen.

L'atteinte muqueuse est rare.



Figure 1: Pemphigoïde bulleuse : bulles tendues sur base érythémateuse (face interne de la cuisse). - © Université Médicale Virtuelle Francophone -

1.1.1.2 Aspect histologique (45, 47):

L'histologie standard montre une bulle sous-épidermique contenant des éosinophiles, sans acantholyse ni nécrose des kératinocytes, associée à un infiltrat inflammatoire dermique polymorphe.

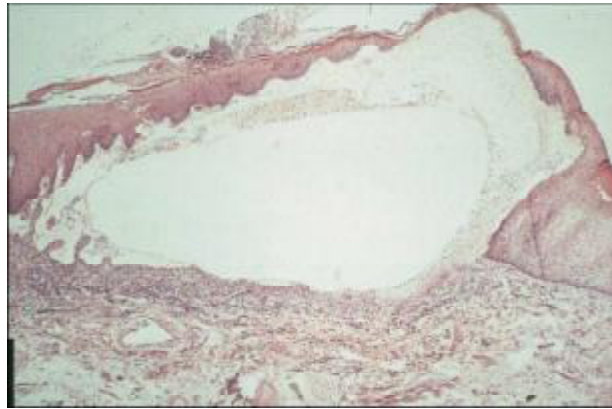


Figure 2 : Pemphigoïde bulleuse : biopsie cutanée standard ; bulle sous-épidermique sans acantholyse. - © Université Médicale Virtuelle Francophone -

1.1.1.3 Aspect immunologique

L'aspect de la fluorescence est typiquement linéaire homogène en un fin liseré continu ou dyscontinu formant une ligne, le long de la jonction dermo-épidermique, à bords nets et d'épaisseur régulière. Un dépôt linéaire de C3 est constamment retrouvé. Le plus souvent ce dépôt de C3 est associé à l'IgG. On peut aussi retrouver, de manière moins fréquente, un dépôt isolé d'IgG. La sous-classe IgG4, est la plus fréquente et la plus précoce, rapidement suivie par l'apparition d'IgG1 et d'IgG3 (22, 37, 38, 39).

En pratique, le dépôt de C3, dont l'intensité est significativement supérieure à celle de l'IgG, favorise le diagnostic des maladies du groupe pemphigoïde.

La Pemphigoïde bulleuse partage le même aspect à l'IFD que la Pemphigoïde gravidique, la Pemphigoïde cicatricielle, le lupus bulleux, et l'EBA. Et ce n'est que le contexte clinique et histologique qui permet de faire la différence.

La variation de l'aspect de la fluorescence résulte (22) :

- des variations de l'angle suivant lequel les coupes sont faites,
- de l'intensité des dépôts,
- et du site de la biopsie.

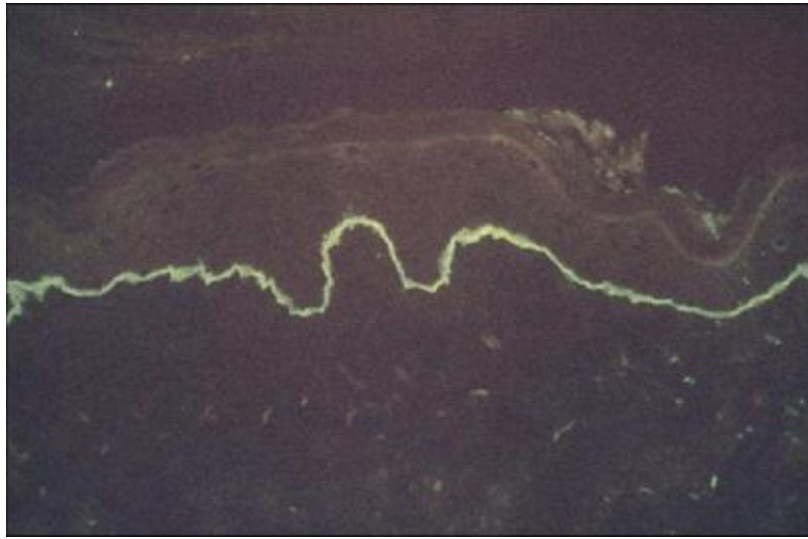


Figure 3 : immunofluorescence directe cutanée ; dépôts linéaires le long de la membrane basale de l'épiderme. - © Université Médicale Virtuelle Francophone -

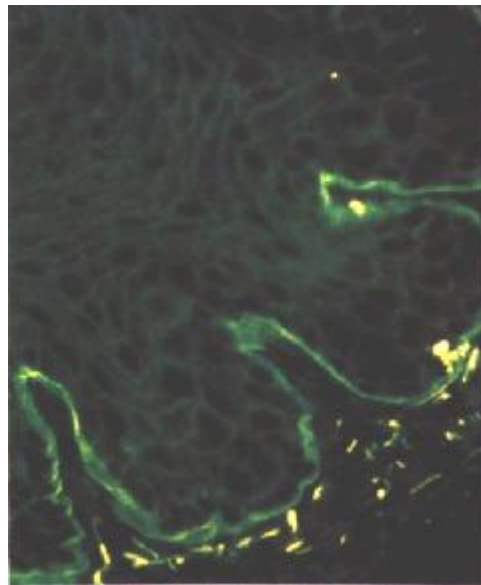


Figure 4 : Aspect de l'IFD de la pemphigoïde bulleuse (21).

Dans notre série 11 patients avaient un dépôt linéaire isolé de C3 le long de la jonction dermo-épidermique (JDE). Et trois patients avaient aussi un dépôt d'Ig G associé.

1.1.1.4 Sensibilité de l'IFD dans la pemphigoïde bulleuse

De façon unanime, dans la pemphigoïde bulleuse, la sensibilité (ou valeur prédictive négative) de l'IFD est proche de 100%, et ce à condition que la technique de l'IFD soit respectée (14, 22, 28). Cependant, la sensibilité de l'IFD peut être modifiée par certains paramètres (40, 22, 24) :

- L'ancienneté de la maladie : à un stade très précoce de la maladie, l'IFD peut être négative, ou positive en C3 uniquement. En effet, les dépôts d'IgG ne peuvent apparaître en IFD, qu'au bout de quelques semaines, d'où la nécessité de répéter les biopsies.

- Le site de la biopsie : le site recommandé dans la PB est la peau péribulleuse loin des extrémités distales et ce pour éviter les faux négatives.
- La corticothérapie au long cours qui peut fausser l'interprétation de l'IFD.

1.1.1.5 Spécificité de l'IFD dans la pemphigoïde bulleuse

La spécificité de l'IFD est cependant moins grande que sa sensibilité. En effet, un grand nombre de DBAI sous-épidermique (surtout la PG, la PC et l'EBA) donnent le même aspect en IFD. De même, le lupus peut avoir une IFD semblable. Ainsi, la confrontation entre la clinique (âge, aspect, des lésions cutanées, évolution), la biologie, l'histologie, l'IFI et l'IFD (Aspect morphologique, type d'immunoréactants déposés et leur intensité) est indispensable (41, 22, 24).

SYNTHESE :

La pemphigoïde bulleuse est la forme la plus fréquente des DBAI sous-épidermiques avec, en IFD, des dépôts linéaires de C3 et/ou d'IgG le long de la JDE.

L'IFD représente un argument diagnostique capital dans les Pemphigoides bulleuses. Elle possède une sensibilité de près de 100% et une faible spécificité; ce qui fait qu'elle a une excellente valeur prédictive négative dans les Pemphigoides bulleuses.

Dans notre série, on a retenu 15 cas de DB avec un taux de positivité de l'IFD de 93% ce qui rejoint les données de la littérature qui sont proches de 100%.

1.1.2 Pemphigoïde gravidique (PG)

Cette une dermatose bulleuse sous-épidermique acquise auto-immune est induite par la grossesse, plus rarement par la prise de contraceptifs oraux, et exceptionnellement par des tumeurs trophoblastiques (25). Son incidence pendant la grossesse est de 0,01 à 0,05%.

L'ancienne dénomination d'« Herpès gestationis» vient de l'aspect de l'éruption, faite de vésicules groupées comme dans les lésions herpétiques.

La fréquence moindre dans la population noire reflète le lien de la pemphigoïde gravidique avec des haplotypes HLA particuliers (fréquence élevée des antigènes HLA DR3 : 61-80% et HLA DR4 : 52% dans la race blanche). Septante-trois pour-cent des cas sont retrouvés chez la femme multipare (3). L'âge de début de la maladie est en moyenne de 30 ans. Ce qui concorde avec notre étude où l'âge moyen était de 31 ans.

La pemphigoïde peut survenir à tout moment de la grossesse mais prédomine au deuxième (34% des cas) et au troisième trimestre (60%). 25% des cas apparaissent après l'accouchement (31).

L'élément immunitaire déclenchant serait lié à l'expression aberrante d'un antigène HLA de classe II d'haplotype paternel. Celui-ci déclencherait une réaction immunitaire allogénique maternelle avec production d'immunoglobulines de type G1 dirigées contre l'antigène PB 180 (antigène de la pemphigoïde bulleuse). Cet

antigène est une glycoprotéine hémi-desmosomale présente dans la membrane basale de l'épithélium amniotique du placenta et du cordon ombilical. Via une réaction croisée entre les antigènes du placenta et les antigènes cutanés homologues situés au sein de la lamina lucida de l'épiderme, ces mêmes autoanticorps se fixent sur la glycoprotéine au sein de la peau. Le complément est alors activé par la voie classique, ce qui déclenche un chimiotactisme avec dégranulation des éosinophiles (rôle important des éosinophiles dans la pathogenèse). Les substances protéolytiques ainsi libérées provoquent des dommages au niveau des desmosomes, ce qui explique les manifestations cutanées de la maladie (33).

1.1.2.1 Aspct clinique :

La phase clinique initiale dure entre deux jours et une semaine. Elle est caractérisée par un prurit intense localisé dans la région péri-ombilicale (73% des cas) et sur les membres (37%). Une éruption maculo-papuleuse apparaît 24 à 48h après le début du prurit.

A la phase d'état, le prurit et l'éruption initiale se généralisent de manière assez symétrique en épargnant le visage et les muqueuses. L'éruption est constituée de papules érythémateuses confluentes polycycliques surmontées de bulles. Ces dernières ne sont cependant pas obligatoires pour poser le diagnostic de la pemphigoïde gravidique. L'état général est conservé, si ce n'est un fébricule qui peut parfois précéder la poussée éruptive. Les lésions évoluent vers des cicatrices dyschromiques.

Généralement, la maladie évolue par poussées successives, avec des périodes d'accalmies. Une aggravation de la maladie au moment de l'accouchement est typique et fréquente (75%). La maladie régresse ensuite dans les trois mois qui

suivent l'accouchement. Cependant, il existe des formes chroniques qui se prolongent plus de six mois après l'accouchement.

Les complications maternelles sont nulles si ce n'est une incidence plus élevée de pathologies auto-immunes associées.

Les complications fœtales sont par contre très sévères. La prématurité est la complication principale. Une éruption vésiculeuse cutanée transitoire, liée au transfert passif des anticorps spécifiques maternels, peut être présente chez le nouveau-né. Cette éruption se résout avec la disparition des anticorps maternels dans le sang de l'enfant. Le danger de cette éruption est lié au risque d'infection (étant donné la fragilité immunitaire du nouveau-né).

1.1.2.2 Aspect histologique :

L'histologie standard montre une bulle sous-épidermique contenant des éosinophiles, sans acantholyse ni nécrose des kératinocytes, associée à un infiltrat inflammatoire dermique polymorphe.

1.1.2.3 Aspect de l'IFD :

Il s'agit, comme dans la pemphigoïde bulleuse, de dépôts linéaires homogènes et continus de C3 et/ou d'IgG le long de la jonction dermo-épidermique (JDE), intensément fluorescents.

Dans notre étude 02 patients avaient un dépôt de C3 et d'IgG associés et 01 patient avait un dépôt isolé de C3.

1.1.2.4 Sensibilité de l'IFD dans la pemphigoïde gravidique (PG):

Le taux global de positivité de l'IFD dans la PG est proche de 100% (22, 27). Le site recommandé pour la biopsie correspond à la peau saine péribulleuse (14). Le traitement et l'activité de la maladie ne modifient absolument pas l'IFD, qui reste longtemps positive même après la guérison de la maladie (24).

Dans notre étude tous les patients pour lesquels le diagnostic de PG a été retenu avaient une IFD positive, c'est à dire un taux de positivité de 100%.

1.1.2.5 Specificité de l'IFD dans la PG :

La spécificité de l'IFD est cependant moins grande que sa sensibilité. En effet, un grand nombre de DBAI sous-épidermique (surtout la PB, la PC et l'EBA) donnent le même aspect en IFD. De même, le lupus peut avoir une IFD semblable. Et ce n'est que la confrontation de l'IFD avec la clinique et les circonstances de survenu qui permet de poser le diagnostic d'une PG.

SYNTHESE :

En matière de Pemphigoïde gestationnelle l'IFD a une excellente valeur prédictive négative. Elle révèle, dans 100% des cas, des dépôts linéaires continus homogènes, de C3 isolé ou associé à un dépôt d'IgG, le long de la jonction dermo-épidermique.

L'IFD représente un argument diagnostic décisif devant une dermatose gestationnelle permettant de la différencier des autres dermatoses gestationnelles où l'IFD est négative.

1.1.3 Pemphigoïde cicatricielle (PC) :

La pemphigoïde cicatricielle est une maladie bulleuse auto-immune sous-épidermique, rare et chronique, atteignant principalement les muqueuses buccale et oculaire (4, 42, 43, 36). Elle se distingue des autres DBAI par son évolution à long terme et son mode de cicatrisation. C'est une pathologie du sujet âgé, entre 50 et 70 ans, touchant particulièrement les femmes (1H/2F), sans prédilection raciale (44).

1.1.3.1 Aspect clinique (1, 47):

Les lésions sont essentiellement muqueuses et se caractérisent par une évolution cicatricielle synéchiante. Les bulles muqueuses, fragiles et fugaces, font rapidement place à des érosions chroniques et douloureuses. Les atteintes les plus

fréquentes sont les atteintes buccales et oculaires. Des érosions génitales, oesophagiennes ou ORL peuvent également se rencontrer. L'évolution vers des cicatrices synéchiantes est particulièrement sévère à la conjonctive, avec un risque important de symblépharon pouvant évoluer vers la cécité, et à l'œsophage, avec un risque de sténose oesophagienne. L'atteinte cutanée est inconstante et se caractérise par des bulles ou des érosions chroniques de siège cervical et céphalique laissant des cicatrices atrophiques.

1.1.3.2 Aspect histologique (1, 47):

C'est le même aspect que celui de la Pemphigoïde bulleuse :il réalise un aspect de bulle sous-épidermique contenant des éosinophiles, sans acantholyse ni nécrose des kératinocytes, associée à un infiltrat inflammatoire dermique polymorphe.

1.1.3.3 Aspect de l'IFD :

Il existe des dépôts fluorescents linéaires homogènes le long de la jonction dermo-épidermique (JDE), semblables à ceux de la pemphigoïde bulleuse (41, 42, 14, 22, 27). Ces dépôts sont faits d'IgG et de C3.

Dans notre étude, un seul cas de Pemphigoïde cicatricielle a été retenu. Il s'agissait d'une patiente âgée de 65 ans. L'IFD objectivait un dépôt linéaire de C3 et d'IgG le long de la JDE.

1.1.3.4 Sensibilité de l'IFD dans la pemphigoïde cicatricielle

Le taux global de positivité de l'IFD dans la pemphigoïde cicatricielle varie selon les auteurs entre 80 à 100%. Le site recommandé pour la biopsie correspond à la zone périlésionnelle (normale ou érythémateuse) (14). La sensibilité de l'IFD serait plus élevée dans les biopsies muqueuses que dans les biopsies cutanées (41, 42, 24).

1.1.3.5 Specificité de l'IFD dans la Pemphigoïde cicatricielle:

L'aspect de l'IFD de la PC ne se distingue pas de celui de la pemphigoïde bulleuse. La confrontation anatomo-clinique et immunopathologique s'impose donc, et permet le plus souvent un diagnostic de quasi-certitude.

Devant ce doute diagnostique, on pourra faire appel à des examens plus sophistiqués tels que : l'immunofluorescence sur peau clivée par le NaCl, l'immunoélectroscopie ou l'immunotransfert.

SYNTHESE :

L'IFD possède une valeur prédictive négative de près de 90%. Son aspect dans la Pemphigoïde cicatricielle est non distinguable de celui de la pemphigoïde bulleuse. D'où l'importance de la confrontation avec le tableau anatomo-clinique pour trancher. La rareté des anticorps anti-membrane basale circulants à l'IFI donne d'autant plus de valeur à l'IFD.

Dans notre série un seul cas de Pemphigoïde cicatricielle a été retenu chez une patiente de 53 ans avec une IFD positive qui montrait un dépôt linéaire de C3 et d'IgG au niveau de la jonction dermo-épidermique.

1.1.4 Epidermolyse bulleuse acquise (EBA) :

C'est une maladie bulleuse sous-épidermique cutanéomuqueuse, caractérisée par la présence d'autoanticorps contre le collagène type VII de la JDE, et un clivage situé sous la Lamina densa (LD). Elle a été classée comme une épidermolyse bulleuse (EB), car cliniquement elle ressemble à la forme congénitale de l'EB (EBC), mais son étiologie est différente de l'origine génétique (45, 46). Les sujets atteints ont une moyenne d'âge de 35 ans, sans prédominance de sexe ni de race (36, 44).

1.1.4.1 Aspect clinique (44, 46, 47):

Deux formes cliniques sont actuellement distinguées : la forme dite aiguë, inflammatoire, qui simule une pemphigoïde bulleuse. Et une forme plus chronique, caractérisée par des bulles mécaniques siégeant en peau non érythémateuse, sur les faces d'extension des membres. Il s'y associe fréquemment des érosions muqueuses, notamment buccales et oculaires. Les bulles guérissent au prix de cicatrices atrophiques en laissant de nombreux grains de milium. Il s'y associe parfois une dystrophie unguéale pouvant conduire à une onycholyse.

1.1.4.2 Aspect histologique (47):

L'histologie oriente le diagnostic en montrant une bulle sous épidermique ne comportant qu'un infiltrat inflammatoire assez pauvre.

1.1.4.3 Aspect de l'IFD (14, 37, 46):

Dépôt linéaire de C3 et d'IgG, parfois d'IgA et d'IgM, le long de la membrane basale de la jonction dermo-épidermique. Les aspects granuleux pur ou fibrillaire sont observés exceptionnellement. Ces différents aspects sont parfois associés. Dans l'EBA, le dépôt d'IgG à la JDE est beaucoup plus intense que celui de C3, inversement à la PB.

Ces dépôts sont donc souvent plus polymorphes que ceux de la pemphigoïde bulleuse.

1.1.4.4 Sensibilité de l'IFD dans l'épidermolyse bulleuse acquise (EBA)

Le taux global de positivité est très élevé, d'environ 95% (22, 46). L'IFD a donc une valeur prédictive négative très élevée. Le site recommandé de la biopsie (donnant la plus forte sensibilité de l'IFD) correspond à la peau saine péribulleuse (14).

1.1.4.5 Spécificité de l'IFD dans l'EBA (46) :

L'IFD est un examen capital pour poser le diagnostic d'EBA. Cependant le résultat de l'IFD de l'EBA est généralement semblable à celui de :

- la pemphigoïde bulleuse
- la pemphigoïde cicatricielle
- la pemphigoïde gravidique
- le lupus érythémateux bulleux.

L'IFD a donc une faible valeur prédictive positive. C'est pourquoi l'interprétation de l'IFD doit toujours être réalisée en accord avec le tableau clinique et l'histologie.

SYNTHESE :

Dans l'EBA, l'aspect de l'IFD est un élément important du diagnostic avec une sensibilité de près de 95%. Mais avec une faible spécificité. Ainsi, devant un doute diagnostique entre l'EBA et la pemphigoïde bulleuse (PB), la réalisation d'une immunofluorescence (IF) sur peau clivée par le NaCl trouve tout son intérêt, et peut trancher : elle montre un marquage limité au plancher du clivage pour l'EBA et au plafond pour la PB. Dans l'EBA, l'IFD possède une valeur prédictive négative de plus de 95% et une faible valeur prédictive positive.

Dans notre étude on a retenu le diagnostic d'EBA chez trois patients. L'âge moyen de nos patients était de 26 ans ce qui concordait avec les données de la littérature. La sensibilité était de 100% ce qui concorde avec les données de la littérature. Chez deux patients on avait un dépôt d'IgG et de C3 associé. Et chez un patient on avait un dépôt de C3 isolé.

1.1.5 Dermatite herpétiforme (DH)

C'est une DBAI sous-épidermique chronique. Rare chez l'enfant (48), elle prédomine chez l'adulte jeune (entre 20 et 50 ans), et est deux fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme (36, 44). Elle est plus fréquente au nord de l'Europe, et chez les sujets de groupe HLA-B8 et HLA-DRW3 (80 à 90% des cas contre 20% dans la population normale) Sa physiopathologie fait intervenir une hypersensibilité à la gliadine contenue dans le gluten, comme la maladie coeliaque qui lui est souvent associée (3, 49, 50, 51, 52, 53).

1.1.5.1 Aspect clinique (52, 53) :

Prurit intense diffus, longtemps isolé. Puis survient des bulles et/ou des vésicules à disposition symétrique aux coudes, genoux et fesses, qui se regroupent en anneau ou en médaillon. Il peut être associé à une entéropathie au gluten, le plus souvent asymptomatique. L'évolution se fait par poussées parfois provoquées par une prise excessive de gluten. Le Risque évolutif, majeur mais rarissime, est la survenue d'un lymphome du grêle.

1.1.5.2 Aspect histologique (53) :

L'histologie cutanée montre un clivage sous-épidermique associé à des micro-abcès du derme papillaire à polynucléaires neutrophiles et éosinophiles.

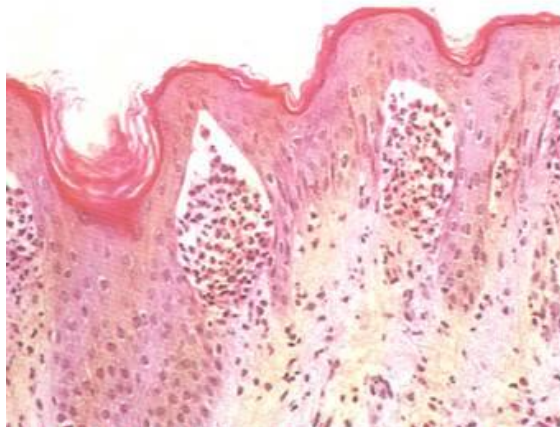


Figure 5: *Histologie de la dermatite Herpétiforme (21).*

Les microabcès à neutrophiles, au sommet des papilles dermiques sont caractéristiques

1.1.5.3 Aspect de l'IFD :

IL est composé d'IgA, présente dans 100% des cas, souvent isolé ou associé à un dépôt de C3. Rarement un dépôt d'IgG ou IgM est associé. Deux aspects peuvent être observés, et même se succéder chez le même patient (22, 27, 51, 53) :

- Le plus typique et le plus fréquent (plus que 85%) consiste en une fluorescence granulaire (ou microgranulaire) située au sommet des papilles dermiques. Un dépôt fibrillaire peut être aussi observé.
- Plus rarement (plus que 10%), la fluorescence peut être granulaire, continue le long de la JDE, donc différente de la fluorescence linéaire homogène de la dermatose à IgA linéaire.

1.1.5.4 Sensibilité de l'IFD dans la dermatite herpétiforme (53) :

L'IFD est extrêmement sensible, elle est positive dans pratiquement 100% des cas (85 à 90% pour la fluorescence granulaire des papilles dermiques, 10 à 15% pour la fluorescence de la JDE). En cas de résultat négatif, les biopsies doivent être répétées. Cependant l'IFD peut être négative en cas de régime sans gluten prolongé.

1.1.5.5 Spécificité de l'IFD dans la dermatite herpétiforme :

Le dépôt granulaire d'IgA au niveau des papilles dermique est pathognomonique de la dermatite herpétiforme. Ce qui fait que l'IFD possède une excellente spécificité dans la dermatite herpétiforme et donc une excellente valeur prédictive positive.

SYNTHESE :

L'existence à l'IFD de dépôts granulaires papillaires d'IgA (ou de dépôts granulaires continus d'IgA de la JDE) est pathognomonique de la dermatite herpétiforme (DH). L'IFD est un élément capital et indispensable au diagnostic de la

dermatite herpétiforme (37, 50, 14, 27, 28, 22, 23, 24, 51,53, 54, 26). L'IFD possède donc une grande sensibilité et spécificité dans la dermatite herpétiforme.

Dans notre étude on n'a retenu aucun cas de dermatite herpétiforme.

1.1.6 Dermatose à IgA linéaire (DIAL) :

Sur la base de ressemblances cliniques et histologiques, elle a été longtemps considérée comme une variante de la dermatite herpétiforme ou de la pemphigoïde bulleuse (55, 56, 57, 53). C'est grâce aux progrès des techniques d'exploitation en immunopathologie cutanée, qu'elle est actuellement bien individualisée.

C'est la maladie bulleuse auto-immune la plus fréquente chez l'enfant, connue sous le nom de «Dermatose bulleuse chronique de l'enfant » (DBCE) (58, 10, 59). Elle peut également survenir chez l'adulte sans limite d'âge particulière. Elle peut être induite par des médicaments, au premier rang desquels la vancomycine, et s'associe dans certains cas à une maladie inflammatoire de l'intestin.

1.1.6.1 Aspect clinique (58, 59):

a-Forme de l'enfant :

Débute à la 2ème enfance sans prédominance de sexe. Avec une atteinte péri-orale et périnéale. Elle se caractérise par une éruption vésiculobulleuse prurigineuse donnant un aspect en rosette ou en bouquet, rarement des bulles tendues de grande taille, reposant sur peau érythémateuse ou normale. L'atteinte muqueuse est inconstante. L'association à une entéropathie au gluten est moins fréquente que dans la dermatite herpétiforme. L'évolution est favorable en 2 à 3 ans.

b- Forme de l'adulte :

Elle se caractérise par une éruption cutanée polymorphe : bulles de taille variable, parfois à groupement herpétiforme, plaques érythémato-urticariennes. Elle a une topographie ubiquitaire avec fréquence de l'atteinte du visage. Le prurit et l'atteinte muqueuse sont inconstants.

1.1.6.2 Aspect histologique (59):

Objective une bulle sous-épidermique avec un infiltrat dermique superficiel composé de polynucléaires neutrophiles et de quelques éosinophiles, réalisant parfois des micro-abcès au sommet des papilles similiaies à ceux observés dans la dermatite herpétiforme.

1.1.6.3 Aspect de l'IFD :

Montre des dépôts fins et linéaires d'IgA, +/- IgG et/ou de C3, le long de la membrane basale dermo-épidermique. S'ils sont présents, les dépôts d'IgG sont nettement moins marqués que dans la Pemphigoïde bulleuse, la Pemphigoïde cicatricielle ou l'épidermolyse bulleuse acquise.

1.1.6.4 Sensibilité de l'IFD dans la dermatose à IgA linéaire (DIAL)

Elle est pratiquement de 100% (14, 22, 27, 28).

1.1.6.5 Spécificité de l'IFD :

L'existence d'une fluorescence linéaire homogène d'IgA le long de la JDE, définit la DIAL. Sa place dans le diagnostic est donc incontournable.

Néanmoins, il peut également persister des doutes diagnostiques (37, 22, 28, 24) :

- Avec une pemphigoïde bulleuse (PB), si les dépôts immuns comportent à la fois des IgA et des IgG. Le critère qui peut trancher dans ce cas, est l'intensité de la fluorescence en IgA et en IgG. Ainsi, si le dépôt d'IgA est plus intense que l'IgG, on retient la DIAL.
- Avec une dermatite herpétiforme (DH), si l'IFD montre un dépôt granulaire continu d'IgA le long de la JDE.

SYNTHESE :

La dermatose à IgA linéaires (DIAL), est une DBAI sous-épidermique, définie par son aspect en IFD : dépôts fluorescents linéaires homogènes le long de la JDE,

composés d'IgA. L'IFD possède une grande sensibilité. Elle est donc l'élément indispensable au diagnostic de cette entité.

Aucun cas de dermatose à IgA linéaire n'a été observé dans notre étude.

1.1.7 Le lupus bulleux :

Le lupus bulleux est une maladie auto-immune rare et peu fréquente de la maladie lupique.

1.1.7.1 Aspect clinique :

Il se manifeste cliniquement par des bulles ou des vésiculo-bulles, parfois regroupé en bouquets, apparaissant en peau saine sur les zones exposées et non exposées, et qui disparaissent sans laisser de cicatrice ou de grains de milium. Très rarement, cette manifestation bulleuse peut être inaugurale de la maladie lupique.

1.1.7.2 Aspect histologique :

Histologiquement il s'agit de bulles sous épidermiques avec un infiltrat de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et souvent une vasculite leucocytoclasique dermique.

1.1.7.3 Aspect de l'IFD :

L'IFD montre des dépôts d'IgG ou IgM et IgA le long de la jonction dermo-épidermique appelé : « bande lupique »

1.1.7.4 Sensibilité de l'IFD dans le lupus bulleux :

La valeur prédictive positive de l'IFD dans le LED est de 95%, et la valeur prédictive négative est de 32% (63). Les dépôts immuns de la JDE peuvent être trouvés dans plusieurs autres maladies, comme la rosacé, le lichen plan, et la cirrhose biliaire primitive.

Dans notre étude nous avons retenu 3 cas de lupus bulleux et pour lesquels l'IFD était positive dans les cas.

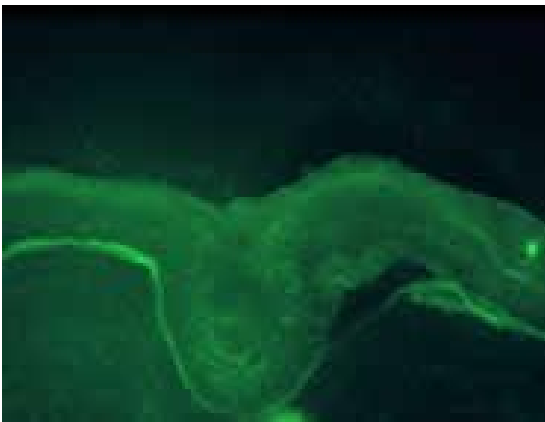


Figure 7 : Aspect de l'IFD dans le LB (bande lupique).

Dépôts linéaires d'IgG/M à la jonction dermo-épidermique en peau saine

1.2 DBAI intra épidermiques ou pemphigus

Les pemphigus constituent un groupe hétérogène de maladies à la fois diverses, peu fréquentes et de pronostics variables, parfois péjoratifs. Le terme pemphigus provient du latin, pemphix ce qui correspond : «souffle» d'où «ce qui est gonflé; bulle» (60).

Ils se définissent comme des dermatoses bulleuses auto-immunes touchant la peau et les muqueuses, liées à la production d'auto-anticorps pathogènes dirigés contre les différentes protéines desmosomales, responsable d'un clivage intraépidermique à l'origine de la lésion bulleuse. (61)

Son incidence annuelle dans la population générale varie de 0,5 à 3,2 cas pour 100.000 individus (64), avec une fréquence accrue dans la population juive et chez les sujets HLA-DR4 ou HLA-A10 (29, 36). Les sujets les plus touchés ont un âge moyen entre 40 et 50 ans, avec une fréquence égale pour les deux sexes, mais peut être vu à tout âge (04, 62, 63, 36, 64).

Le pemphigus se définit par trois critères, clinique, histologique et immunologique de la manière suivante : survenue de bulles cutanées et/ou muqueuses secondaires à l'acantholyse intra épidermique (ou perte de cohésion entre les kératinocytes); cette dernière et elle-même consécutive à la fixation d'anticorps à la surface des kératinocytes (65, 66, 64, 26).

Suivant le siège de l'acantholyse, on distingue deux grandes formes de pemphigus : les pemphigus profonds où le clivage est supra-basal et les pemphigus superficiels où le clivage est sous -cornée :

- Les pemphigus profonds :
 - le pemphigus vulgaire (Pvu)
 - le pemphigus végétant (Pvé)
- Les pemphigus superficiels :
 - le pemphigus séborrhéique ou érythémateux (PE) ou de Senear-Usher
 - le pemphigus foliacé (PF) :
 - le pemphigus endémique (PF brésilien ou Fogo Selvagem)
 - le pemphigus herpétiforme (ou pemphigus avec spongiose à éosinophile)
- Les autres variantes du pemphigus (67) :
 - Le pemphigus à IgA ayant 2 types (68, 69) :
 - Dermatose pustuleuse sous cornée (DPS)
 - Dermatose neutrophilique intra épidermique (NIE)
 - Le pemphigus paranéoplasique (PPN) (70)
 - Le pemphigus médicamenteux

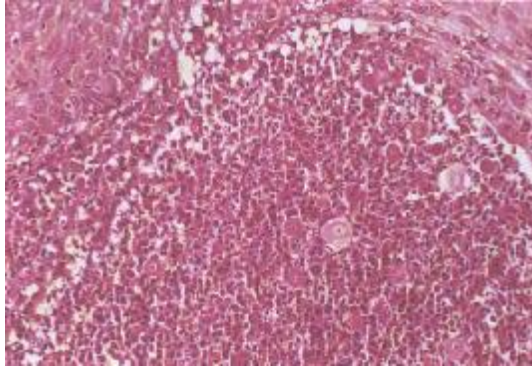


Figure 8 : Histologie du pemphigus Végétant (21).

Acantholyse suprabasale (identique au pemphigus vulgaire), difficilement mise en évidence à cause des abcès intra épidermique à éosinophiles.

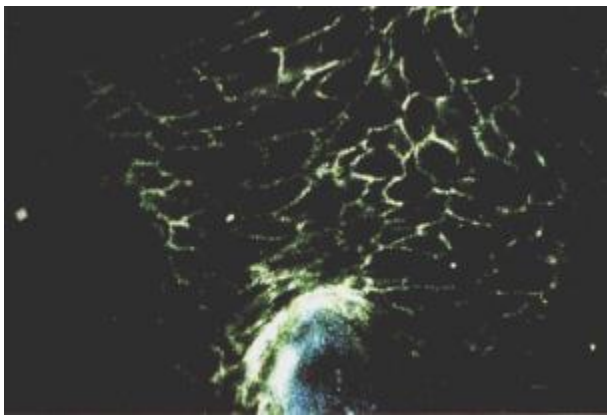
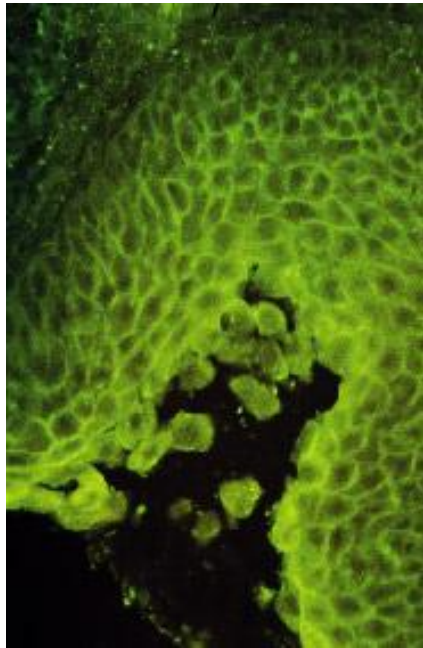


Figure 9 : Aspect de l'IFD dans le pemphigus vulgaire (21).

Des anticorps anti-IgG marqués à la fluorescéine (en vert) se déposant entre les cellules de l'épiderme (aspect en maille de filet.

Figure 10 (21): Aspect de l'IFD dans le pemphigus

Dépôt de complexes immuns (IgG surtout) « en résille ou en maille de filet » sur toute la hauteur de l'épiderme.



A) Pemphigus profonds :

1.2.1 Pemphigus vulgaire (71, 72, 73):

Le pemphigus vulgaire constitue la forme la plus fréquente de pemphigus avec plus de 70 % des cas.

1.2.1.1 Aspect clinique :

Le pemphigus vulgaire débute le plus souvent de façon insidieuse par des lésions muqueuses. L'atteinte buccale, faite d'érosions douloureuses, traînantes, pouvant gêner l'alimentation, est plus fréquente que les atteintes génitale et oculaire. L'atteinte cutanée survient secondairement, plusieurs semaines ou plusieurs mois après les érosions muqueuses. Elle se caractérise par des bulles flasques à contenu clair, siégeant en peau saine. Fragiles, les bulles laissent rapidement place à des érosions post-bulleuses cernées par une collerette épidermique. Il existe un signe de Nikolsky

en peau périlésionnelle, et parfois en peau saine. Des érosions oesophagiennes, vaginales et rectales sont également possibles. Le pemphigus végétant est une forme clinique caractérisée par l'évolution végétante des lésions

qui se localisent dans les grands plis. Il est caractérisé par sa gravité et son pronostic péjoratif qui relève parfois d'un service de réanimation.

1.2.1.2 Aspect histologique :

L'histologie d'une bulle, dans le pemphigus vulgaire, montre un aspect pathognomonique associant un clivage horizontal intraépidermique suprabasal et des cellules épidermiques en formes arrondie et leur cytoplasme à tendance à se densifier, ce qui donne l'aspect classique du « cerne de deuil », ces cellules sont isolées ou regroupées en lambeaux, flottant librement dans la cavité : c'est le phénomène d'acantholyse.

Le toit de la bulle est plus épais, fait d'une grande partie de l'épiderme, alors que les cellules du plancher sont souvent comparées à des « pierres tombales », en raison de leur succession régulière en couche unique reposant sur la membrane basale.

Un infiltrat dermique mixte, le plus souvent modéré et composé de polynucléaires neutrophiles et/ou éosinophiles, est souvent présent. Un infiltrat mastocytaire périvasculaire et péripilair du derme superficiel est retrouvé lorsqu'il est recherché à l'aide de colorations spéciales.

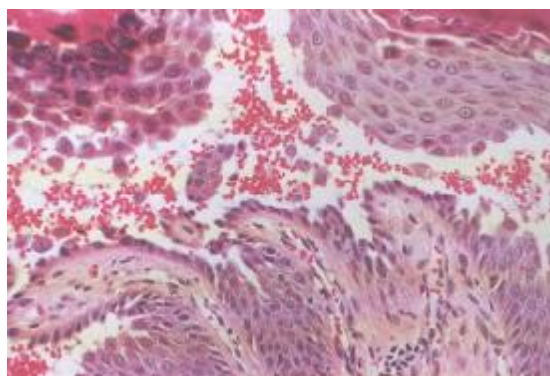


Figure 13 : *Histologie du pemphigus vulgaire.*

Des papilles dermiques hypertrophiées se projettent dans la cavité bulleuse réalisant des pseudovillosités recouvertes d'une couche unique de cellules basales : aspect caractéristique de l'acantholyse basale.

1.2.1.3 Aspect de l'IFD :

L'IFD révèle des dépôts immuns à la surface des kératinocytes épidermiques (ou espace interkératinocytaire), réalisant un aspect de fluorescence réticulaire épidermique en « résille » ou en « maille de filet » (37, 14, 22, 23, 27, 28, 26).

La fluorescence intéresse toute l'épaisseur de l'épiderme, mais surtout la zone supra basale : bien visible dans la couche basale et le stratum spinosum, et moins bien détectable dans le stratum granulosum et le stratum cornéum (7, 8).

Le dépôt interkératinocytaire d'IgG est caractéristique. Il s'agit principalement des sous classes IgG1 et IgG4 (65), et rarement d'IgG2 et IgG3. Ce dépôt d'IgG est retrouvé pratiquement dans 100% des cas, à la phase d'état de la maladie. Ce taux de positivité de l'IFD est plus faible à la phase du début de la maladie.

Des dépôts d'IgM et/ou d'IgA, associés aux IgG, peuvent être présents dans 30 à 50% des cas (14, 65, 29, 26). Des dépôts d'IgE associés ont été signalés dans de très rares cas (24).

Le dépôt interkératinocytaire du complément, spécialement la fraction C3, est fréquemment observé, en association avec le dépôt d'IgG (dans 50% des cas) (14, 65, 22, 27). La fréquence et habituellement l'intensité du dépôt de C3 sont plus faibles que celles d'IgG. Le C3 est considéré comme un marqueur de l'activité de la maladie. Toutefois, le diagnostic de pemphigus ne doit pas être retenu devant un dépôt inter-kératinocytaire de C3 isolé (sans IgG), car ce profil peut-être trouvé dans beaucoup de dermatoses inflammatoires non spécifiques (23). D'autres fractions du complément peuvent aussi être observées C1q, C4 et C9.

1.2.2 Pemphigus végétant (71, 72, 73):

C'est une variante de pemphigus vulgaire caractérisée par des placards hypertrophiques, végétant, croûteux et humides siègent le plus souvent dans les grands plis. Il ne représente que 1 à 2 % des cas de pemphigus.

1.2.2.1 Aspect clinique :

On distingue deux types :

-La forme de Neumann : débute par une éruption bulleuse comparable à celle du pemphigus vulgaire. Cependant, sur les érosions postbulleuses se développent secondairement des végétations mamelonnées, rouges, molles, suintantes et croûteuses, dont la confluence donne naissance à de vastes placards végétants cernés de lambeaux de décollement épidermiques. Les lésions peuvent être d'emblée végétantes si la phase bulleuse manque. Le signe de Nikolsky est souvent présent. L'évolution se fait vers l'affaissement des lésions qui laissent une plage pigmentée. Les lésions prédominent au niveau des plis.

- La forme de Hallopeau (ou pyodermite végétante) : forme bénigne et pustuleuse. Les lésions initiales sont constituées par des pustules reposant sur une base inflammatoire. Les lésions s'étendent de façon centrifuge et peuvent prendre un aspect polycyclique. L'évolution se fait vers des érosions bourgeonnantes et des végétations cernées rapidement par de nouvelles pustules. La régression des lésions laisse une pigmentation brunâtre séquellaire. Les lésions siègent électivement aux plis génitocruraux, au pubis, aux plis sous-mammaires et autour de l'ombilic, mais aussi sur la nuque et dans le cuir chevelu. Un périonyxis est fréquemment rencontré.

1.2.2.2 Aspect histologique :

Le même aspect histologique que pour le pemphigus vulgaire est retrouvé ; associé à une papillomatose avec un renflement en « massue » des bourgeons interpapillaires qui s'enfoncent dans le derme superficiel et formation de grandes

pustules intra-épidermiques contenant des polynucléaires éosinophiles. Dans les lésions anciennes, une hyperkératose peut se former avec de véritables végétations et des abcès dermo-épidermiques.

1.2.2.3 Aspect de l'IFD :

Montre le même aspect que celui du Pemphigus vulgaire. C'est ainsi que l'IFD objective des dépôts d'Ig G et/ou C3 au niveau des membranes cytoplasmiques des kératinocytes donnant un aspect caractéristique en « mailles de filet ». Bien que la desmogléine 3 (Dsg3) prédomine au niveau des couches basale et suprabasale de l'épiderme, le marquage est retrouvé plus souvent sur toute l'épaisseur de l'épiderme.

Synthèse :

L'IFD objective des dépôts d'Ig G et/ou C3 au niveau des membranes cytoplasmiques des kératinocytes donnant un aspect caractéristique en « résille ou en mailles de filet ». Cette constatation a une valeur diagnostique presque formelle, même en l'absence d'acantholyse histologiquement décelable.

Dans notre étude, nous avons retenu 08 cas de pemphigus vulgaire.

Aucun cas de Pemphigus végétant n'a été retenu.

B) Pemphigus superficiel (71, 72, 73):

1 Pemphigus séborrhéique ou érythémateux :

La maladie survient à tout âge et touche un peu plus fréquemment les femmes que les hommes. Le pemphigus séborrhéique représenterait environ 8 % des cas de pemphigus.

1.1 Aspect clinique :

Il forme des plaques érythémato-squamo-croûteuses bien limitées, parfois prurigineuses. Ces lésions sont secondaires à des bulles superficielles et éphémères, siégeant dans les zones séborrhéiques du visage et du tronc. Sur le visage, les

lésions peuvent prendre une disposition caractéristique du lupus. Le prurit est fréquent. Une atteinte muqueuse est parfois retrouvée sous forme d'une stomatite érosive, mais elle est très rare. Le signe de Nikolsky est habituellement présent. Les lésions sont classiquement photosensibles. En résumé, les aspects rencontrés correspondent à une transition entre des lésions postbulleuses, des lésions de dermite séborrhéique et des lésions lupiques.

1.2 Aspect histologique :

L'histologie montre un clivage haut situé dans l'épiderme, au niveau de la couche granuleuse, avec formation d'une bulle sous-cornée. L'acantholyse est constante mais discrète, associée à un infiltrat inflammatoire modéré du derme superficiel. Cet infiltrat est le plus souvent polymorphe et contient volontier des polynucléaires éosinophiles.

1.3 Aspect de l'IFD :

Objective des dépôts d'IgG et/ou C3 « en maille de filet » ces dépôts épargnent les couches profondes de l'épiderme et se localisent au niveau superficiel. Des dépôts granuleux d'IgG et de C3 sur la jonction dermoépidermique (bande lupique) sont retrouvés sur 80 % des biopsies de peau saine réalisées en zone photoexposée et dans 20 à 40 % des cas en zone non photoexposée. L'aspect de l'IFD est très particulier, associant

- Une fluorescence réticulaire « en résille » épidermique typique du pemphigus intéressant l'épiderme superficiel et une fluorescence linéaire granuleuse le long de la JDE simulant une bande lupique.

2 Pemphigus foliacé :

Il est considéré comme la forme généralisée du pemphigus séborrhéique.

2.1 Aspect clinique :

Les bulles initiales, flasques, font rapidement place à des plaques érythémateuses suintantes squamo-croûteuses qui confluent pour réaliser un tableau d'érythrodermie exfoliative suintante. Le signe de Nikolsky est très positif. L'atteinte muqueuse est très inhabituelle et, lorsqu'elle est présente, se traduit par des érosions buccales très superficielles moins sévères que dans le pemphigus vulgaire. Une atteinte phanérienne est en revanche habituelle avec dans certains cas, une alopecie. Il s'agit d'une maladie sévère. L'évolution est chronique.

2.2 Aspect histologique :

L'histologie objective le même aspect que le pemphigus séborrhéique.

2.3 Aspect de l'IFD :

Réalise aussi le même aspect que le pemphigus séborrhéique.

3 Pemphigus herpétiforme :

Décrit pour la première fois en 1975 par Jablonska et al, Il s'agit d'une variété non exceptionnelle de pemphigus dont la clinique est atypique.

3.1 Aspect clinique :

Se présente comme une dermatite herpétiforme avec souvent des lésions vésiculo bulleuses à distribution annulaire, mais des lésions de pemphigoïde bulleuse ou de dermatose à IgA linéaire peuvent se voir. Les lésions initiales sont souvent constituées de plaques urticariennes ou de lésions érythémateuses, voire érythémato-squameuses, souvent circonscrites, associées à des vésicules ou des bulles et prenant volontiers une disposition herpétiforme. Les lésions siègent essentiellement sur le tronc mais peuvent également atteindre les membres, de façon symétrique. Un prurit, souvent intense, est fréquemment retrouvé. Une atteinte muqueuse, essentiellement buccale, n'a été rapportée que dans quatre cas. Le signe de Nikolsky est inconstant. L'évolution de la maladie est lente et ce n'est

que secondairement qu'apparaissent des signes cliniques typiques de pemphigus superficiel ou vulgaire.

3.2 Aspect histologique :

En plus de l'aspect retrouvé dans le pemphigus séborrhéique La caractéristique principale est la présence d'une spongiose à éosinophiles. Cet aspect, correspond à l'exocytose de polynucléaires éosinophiles dans l'épiderme, associée à une spongiose pouvant former des vésicules.

3.3 Aspect de l'IFD :

L'IFD permet de rattacher l'affection au groupe des pemphigus auto-immuns en montrant des dépôts d'IgG et/ou C3 au niveau des membranes cytoplasmiques kératinocytaires.

4 Pemphigus endémique (PF brésilien ou Fogo Selvagem) :

Le pemphigus endémique se rapproche du pemphigus foliacé par sa présentation clinique et paraclinique. Décrit initialement dans certaines régions du Brésil. Il sévit avec une prévalence très augmentée dans certaines régions du monde et présente des caractéristiques épidémiologiques très particulières, en touchant en particulier des adultes jeunes et des enfants.

Synthèse :

L'IFD objective des dépôts d'IgG et/ou C3 « en maille de filet ». Rarement, ces dépôts épargnent les couches profondes de l'épiderme et se localisent au niveau superficiel. Des dépôts granuleux d'IgG et de C3 sur la jonction dermoépidermique (bande lupique) peuvent être retrouvés.

Dans le pemphigus herpétiforme, l'IFD permet de rattacher l'affection au groupe des pemphigus auto-immuns en montrant des dépôts d'IgG et/ou C3 au niveau des membranes cytoplasmiques kératinocytaires.

Dans notre étude on a retenu 02 cas de Pemphigus foliacé, 02 cas de Pemphigus séborrhéique et un cas de Pemphigus herpétiforme.

C) Pemphigus paranéoplasique : (71, 72, 73, 74)

Décrit pour la première fois par Anhalt et al en 1990 comme une maladie mucocutanée distincte caractérisée pas son association à une néoplasie. Il s'agit habituellement de proliférations lymphoïdes, de type lymphomes, leucémies lymphoïdes chroniques, thymome, maladie de Castelman et plus rarement de tumeurs solides.

1. Aspect clinique :

Les lésions cutanéomuqueuses observées sont très polymorphes: elles associent de façon variable et inconstante des signes de pemphigus. Elles débutent généralement par des érosions buccales traînantes, douloureuses, entraînant une dysphagie. Une atteinte conjonctivale, à type de conjonctivite pseudomembraneuse, est fréquemment associée, ainsi que des lésions érosives génitales, d'érythème polymorphe siégeant souvent sur la plante des pieds. Un érythème confluant avec signe de Nikolsky peut également être observé. Il peut aussi s'y associer des lésions urticariennes, prurigineuses, à contours circinés, accompagnées de grosses bulles tendues, ou d'éruption médicamenteuse ou encore de lichen.

2. Aspect histologique :

L'histologie montre en plus de l'acantholyse, une vacuolisation des kératinocytes basaux, une nécrose monocellulaire d'un kératinocyte, voire la nécrose totale de l'épiderme. Un décollement dermo-épidermique est parfois trouvé. Le derme est le siège d'un infiltrat lymphocytaire lichénoïde.

Aucun cas de Pemphigus paranéoplasique n'a été retenu.

3. Aspect de l'IFD :

L'immunofluorescence directe montre des dépôts d'IgG et de C3 au niveau de la membrane cytoplasmique des kératinocytes. Un marquage intracytoplasmique peut être observé. Il existe typiquement (mais non constamment) des dépôts linéaires ou granuleux, discontinus d'IgG et plus souvent de C3 le long de la jonction dermo-épidermique. Ainsi, l'aspect de l'IFD est très particulier, associant une fluorescence réticulaire « en résille » épidermique typique du pemphigus toute l'épaisseur de l'épiderme et une fluorescence linéaire granuleuse le long de la JDE.

D)Le pemphigus à IgA : [72, 74]

1 Aspect clinique :

La présentation clinique est variable, à type de pemphigus foliacé ou de pemphigus vulgaire, de pustulose sous-cornée, comprenant des lésions vésiculopustuleuses, parfois groupées en figures annulaires, atteignant préférentiellement les grands plis et le tronc, ou encore rappelant la dermatite herpétiforme. Les muqueuses sont fréquemment respectées, bien que l'atteinte isolée des muqueuses ait été décrite.

2 Aspect histologique :

L'histologie montre un infiltrat riche en polynucléaires neutrophiles pouvant se grouper en abcès intra-épidermiques ou sous-corné. Le clivage intraépidermique avec des cellules acantholytiques n'est pas constant.

3 Aspect de l'IFD :

Il est caractérisée par la présence de dépôts d'IgA « en maille de filet » (avec ou sans C3), en encore sous-cornés, ou au niveau des membranes kératinocytaires.

Aucun cas de Pemphigus à Ig A n'a été retenu.

E) Le pemphigus induit médicamenteux (72,74) :

Sont déclenchés par les médicaments contenant un groupe thiolé tels que la D-pénicillamine, le captopril, la thiopronine, la pyrithioxine mais également avec d'autres (piroxicam, bêtabloquants, phénylbutazone, rifampicine).

1) Aspect clinique :

L'aspect clinique est le plus souvent celui d'un pemphigus superficiel et moins fréquemment celui d'un pemphigus vulgaire ou herpétiforme. L'atteinte des muqueuses est rare. En raison de ce polymorphisme clinique, une étiologie médicamenteuse doit être évoquée devant tout cas de pemphigus.

Le pemphigus induit disparaît spontanément en quelques mois dans la majorité des cas après l'arrêt du médicament et une corticothérapie générale à doses modérées. En revanche, les formes idiopathiques révélées par un médicament peuvent persister, et nécessitent les traitements immunosuppresseurs conventionnels.

2) Aspect histologique :

L'acantholyse peut être secondaire à l'action directe du médicament le plus souvent, ou alors le médicament déclenche un pemphigus auto-immun avec risque d'autonomisation de la maladie malgré l'arrêt du traitement, nécessitant le recours à la corticothérapie.

3) Aspect de l'IFD :

La recherche d'autoanticorps, par immunofluorescence directe, est cependant, moins souvent positive que lors des pemphigus idiopathiques. Parfois le médicament ne fait que déclencher un pemphigus auto-immun. L'IFD montre alors un marquage de type pemphigus.

Aucun cas de Pemphigus médicamenteux n'a été retenu.

F) Sensibilité de l'IFD dans le pemphigus et la valeur prédictive positive :

La sensibilité de cet examen est considérée comme excellente par la plupart des auteurs. Elle est évaluée par un paramètre important, il s'agit de la valeur prédictive négative (VPN) de l'IFD dans le pemphigus (22, 27).

Dans le pemphigus, la VPN de l'IFD est de 85% à 90%, elle n'est pas de 100% à cause des résultats faux négatifs occasionnels, qui peuvent résulter (14, 22):

- Des erreurs techniques : mauvaise conservation ou utilisation de fausses ou faibles antiglobulines humaines fluorescentes.
- De la présence d'inflammation et de formation bulleuse dans le prélèvement biopsique. D'où l'importance du bon choix du site de prélèvement dans la sensibilité et la spécificité de l'IFD. Dans le pemphigus, le site recommandé de la biopsie pour l'examen en IFD est la peau saine péribulleuse.
- Ou encore, de l'usage d'un panneau limité d'antiglobulines humaines qui n'inclut pas l'anti-IgA (pour le P. à IgA).

Toutefois, si l'IFD est réalisée dans le respect des conditions optimales ci-dessus, alors on note qu'elle est presque toujours positive à la phase d'état ou la forme active de la maladie.

Dans le cas où l'IFD est négative ou non spécifique, alors que l'histopathologie évoque le pemphigus, le médecin devrait répéter l'IFD et/ou s'appuyer sur l'IFI pour confirmer le diagnostic de pemphigus.

Dans notre série, nous avons retenu 13 cas de Pemphigus avec un taux de positivité de l'IFD d'environ 84,6 % ce qui rejoint les données de la littérature. Dans le Pemphigus vulgaire le taux de positivité était de 75%, dans le Pemphigus séborrhéique 100%, dans le Pemphigus foliacé 100% et dans le Pemphigus herpétiforme 100% des cas aussi.

Les IFD positives du pemphigus ont montré dans 69,3% des cas, un dépôt d'IgG isolé en interkératinocytaire, associé dans 30,7% des cas à un dépôt de C3.

G) Spécificité de l'IFD dans le pemphigus et VPP :

La spécificité de l'IFD dans le pemphigus est très bonne. Elle est évaluée par un paramètre important, il s'agit de la valeur prédictive positive (VPP) de l'IFD dans le pemphigus qui correspond à la probabilité qu'a un malade à présenter la maladie si l'IFD est positive. Dans le pemphigus, la VPP de l'IFD est extrêmement élevée, et s'approche de 100% (22, 23, 27).

Toutefois, on connaît l'existence de fausses IFD positives au cours de (24):

- certaines toxidermies ou allergies médicamenteuses (Ampicilline, Phénophtaléine)
- la dermatose acantholytique de GROVER

Mais dans ces cas, les signes cliniques et histologiques ne sont pas ceux du pemphigus, et peuvent fréquemment conduire au vrai diagnostic. Ainsi, le diagnostic de pemphigus ne doit pas être retenu quand il y a un dépôt isolé de C3 dans l'espace interkératinocytaire, car ce dernier peut être présent dans beaucoup de dermatoses inflammatoires non spécifiques (14, 23).

SYNTHESE :

Les pemphigus sont caractérisés histologiquement par une bulle intraépidermique avec acantholyse.

L'aspect IFD des pemphigus est quasiment pathognomonique quand les dépôts sont constitués d'IgG et de C3 (et d'IgA pour le P. à IgA) : Fluorescence interkératinocytaire en maille de filet de l'épiderme.

Le rôle diagnostique de l'IFD dans le pemphigus est majeur, du fait du grand polymorphisme clinique et histologique et de la précocité de sa positivité.

Ainsi l'IFD est indispensable au diagnostic dans (22, 24, 27):

- les pemphigus débutants où l'IFD est le seul examen positif (l'IFI ne s'est pas encore positif),
- les pemphigus paucisymptomatiques et/ou séronégatifs,
- les formes atypiques, où la clinique et/ou l'histologie sont peu spécifiques,
- les pemphigus érythémateux et paranéoplasique, où l'aspect de l'IFD est très caractéristique,
- le pemphigus végétant, surtout en cas d'hésitation diagnostique avec une pyodermite végétante, qui peut aussi présenter histologiquement une acantholyse,
- le pemphigus herpétiforme, où seule l'immunopathologie permet de poser le diagnostic (75),
- les pemphigus purement muqueux (buccaux ou oculaires) qui s'avèrent souvent séronégatifs,
- Les pemphigus induits et le pemphigus à IgA, où la sensibilité de l'IFD est nettement supérieure à celle de l'IFI (14).

2 Les dermatoses bulleuses non auto-immunes :

L'IFD peut être utile pour différencier entre les dermatoses bulleuses non auto-immune et les dermatoses bulleuses auto-immunes.

Elle est généralement négative, mais parfois, elle peut montrer des aspects très variables, non spécifiques : une fluorescence des corps cytoïdes, des dépôts d'immunoglobulines dans les vaisseaux dermiques ou le long de la jonction dermo-épidermique.

Dans notre série toutes les dermatoses bulleuses non auto-immunes avaient une IFD négative

VALEUR DIAGNOSTIQUE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE

DIRECTE (IFD) CUTANEE DANS NOTRE EXPERIENCE :

La valeur diagnostique de l'IFD signifie le degré de contribution de cette technique dans l'élaboration du diagnostic final retenu.

Les DBAI à IFD positive représentaient 37/38 cas de l'ensemble des DBAI retenues, soit un taux de positivité de 95%.

La valeur diagnostique de l'IFD positive dans les DBAI était comme suit :

- Elle a confirmé le diagnostic clinique et histologique dans 22 cas, qui sont :

08 cas de pemphigus

07 cas de pemphigoïde bulleuse

02 cas d'épidermolyse bulleuse acquise

02 cas de pemphigoïde gestationnelle

02 cas de lupus bulleux

01 cas de pemphigoïde cicatricielle

- Elle a confirmé le diagnostic histologique dans 03 cas de pemphigoïde bulleuse et 02 cas de pemphigus.
- Elle a confirmé le diagnostic clinique dans 01 cas de pemphigoïde bulleux et 01 cas de lupus bulleux.
- Elle a posé seule le diagnostic final dans 03 cas de pemphigoïde bulleuse, 01 cas de pemphigus, 01 cas d'EBA, 01 cas de pemphigoïde gestationnelle et 01 cas de pemphigoïde cicatricielle en écartant le diagnostic clinique et histologique de dermatite herpétiforme.

La valeur diagnostique de l'IFD négative dans les DBAI était comme suit :

- Elle a confirmé le diagnostic clinique et histologique dans 05 cas, qui sont :

03 cas de Toxidermie

01 cas d'érythème polymorphe

01 cas de Prurigo bulleux

SYNTHESE :

Dans notre expérience, l'IFD cutanée positive a permis de conclure au diagnostic final de DBAI de la manière suivante :

- Soit elle a *confirmé* un diagnostic dont la clinique et/ou l'histologie étaient compatibles,
- Soit elle a *tranché* dans un doute diagnostique clinique et/ou histologique,
- Soit elle a *éliminé* un diagnostic clinique et/ou histologique et a retenu un autre.

Tableau 22 : Tableau récapitulatif de l'IFD cutanée
selon la littérature et les résultats personnels

Dermatoses	Résultats de l'IFD dans littérature	Résultats personnels de l'IFD
	Taux de positivité	Taux de positivité
Pemphigoïde bulleuse	100%	14 cas sur 15 (93%)
Pemphigoïde cicatricielle	80-100%	1 cas sur un (100%)
Pemphigoïde gravidique	100%	3 cas sur 3 (100%)
Epidermolyse bulleuse acquise	95%	3 cas sur 3 (100%)
Lupus bulleux	100%	3cas sur 3 (100%)
Dermatite herpétiforme	85-90%	
	10-15%	
Dermatose à IgA linéaire	100%	
Pemphigus vulgaire et foliacé	80-100%	11 cas sur 13 (84%)
Pemphigus érythémateux et paranéoplasique		
Pemphigus à IgA		-

CONCLUSION

L'immunofluorescence directe est une technique de marquage immunohistochimique, qui consiste à révéler des motifs antigéniques, présents sur une biopsie cutanée, par application d'anticorps (AC) spécifiques du motif antigénique à révéler, rendu préalablement fluorescents par couplage à un fluorochrome.

Dans les dermatoses bulleuses auto-immunes les AC se fixent sur l'Ag situé dans l'épiderme (DBAI intra-épidermique) ou le long de la jonction dermo-épidermique (DBAI sous épidermique). Les cinq anticorps utilisés en routine détectent les Ig A, les Ig G, les Ig M, les C1q et les C3. Ce qui permet d'individualiser plusieurs entités cliniques de DBAI selon le siège et la nature des anticorps fixés.

Les inconvénients de l'IFD sont surtout liés à toutes les causes de fluorescences non spécifiques qui peuvent en rendre l'interprétation délicate. La fluorescence s'éteignant avec le temps, le recours aux documents photographiques systématique s'impose. Dans les DBAI la biopsie cutanée doit toujours se faire en peau périlésionnelle.

Notre travail a cherché à apercier l'apport de l'IFD dans le diagnostic des DBAI. Nos résultats ont été superposables à ceux de la littérature. Ils ont pu démontrer l'intérêt capital de l'IFD dans la démarche diagnostique des dermatoses bulleuses auto-immune.

RESUME

RESUME

Les dermatoses bulleuses auto-immunes constituent un groupe hétérogène de maladie à la fois très diverse et de pronostic variable, parfois péjoratif. Leur diversité nécessite la combinaison d'examen clinique, anatomopathologique et immunohistochimique.

L'application de la technique d'immunofluorescence directe (IFD) aux biopsies cutanées, pour y rechercher des motifs antigéniques cellulaires ou tissulaires, a permis d'améliorer le diagnostic des dermatoses bulleuses auto-immunes. Le principe de la technique consiste à révéler des motifs antigéniques, présents sur une biopsie cutanée, par application d'anticorps (AC) spécifiques du motif antigénique à révéler, rendu préalablement fluorescents par couplage à un fluorochrome. Les cinq anticorps utilisés en routine détectent les Ig A, les Ig G, les Ig M et les C3.

Notre travail a porté sur une étude rétrospective réalisée au laboratoire d'Anatomie Pathologie du CHU Hassan 2 de Fes. Et ce à partir des dossiers de patients suivis au service de dermatologie et ayant bénéficiés d'un examen immunohistochimique (IFD) sur une période de deux ans (2010-2011). Ainsi nous avons retenu 43 cas suivis en dermatologie et pour lesquels une IFD a été réalisée.

Les diagnostics finaux des DBAI retenues étaient réparties comme suit : 15 cas de pemphigoïde bulleuse, 13 cas de Pemphigus (08 cas de pemphigus vulgaire, 02 cas de pemphigus foliacé, 02 cas de Pemphigus séborrhéique et un cas de Pemphigus herpétiforme), 03 cas d'Épidermolyse bulleuse acquise, 03 cas de pemphigoïde gestationnelle, 03 cas de lupus bulleux et un cas de pemphigoïde cicatricielle.

L'IFD possède un degré variable de sensibilité et de spécificité selon la nature de la DBAI. Les DBAI sous épidermiques possède une grande sensibilité et

une faible spécificité, mis à part la dermatite herpétiforme et la dermatose à IgA linéaire qui possèdent aussi une forte spécificité. Les DBAI sous épidermique possèdent une forte sensibilité et aussi une forte spécificité.

Selon la littérature le taux de positivité de l'IFD dans les DBAI est très élevé. Ce qui rejoint les résultats de notre étude qui étaient : de 93% dans la Pemphigoïde bulleuse, de 85% dans le groupe des Pemphigus, de 100% dans la Pemphigoïde gestationnelle, de 100% dans l'Épidermolyse bulleuse, de 100% dans le lupus bulleux et de 100% dans la pemphigoïde cicatricielle.

L'IFD a réussi à démontrer qu'elle possédait une grande valeur diagnostic dans les dermatoses bulleuses auto-immunes. Elle permet de confirmer un diagnostic dont la clinique et l'histologie sont compatibles, de trancher dans un doute diagnostic clinique et/ou histologique et d'éliminer un diagnostic clinique et/ou histologique et d'en retenir un autre.

ABSTRACT

Autoimmune bullous dermatosis (AIBD) are a heterogeneous group of disease, that are having both variable's prognosis and sometimes pejorative. Their diversity requires the combination of clinical exam, histology and direct immunofluorescent (DIF).

Applying the direct immunofluorescent (DIF) to the skin biopsy, looking for antigenic unit, has allowed to improve the diagnosis of autoimmune Bullous dermatosis. The principle of the technic is to reveal the antigenic motif, present on a skin biopsy, by using specific antibodies (AC) of the antigenic unit to be revealed, transformed previously to fluorescent by coupling it to a fluorochrome. The five antibodies used routinely detect Ig A, Ig G, Ig M and C3.

Our work has focused on a retrospective study in the laboratory of anatomopathology at University Hospital Hassan 2 of Fez. Built from the records of patients at the dermatology Department and receiving a DIF review over a period of two years (2010-2011). We chose 43 cases treated on Department of Dermatology and Venereology and for which a DIF was carried.

The final Autoimmune bullous dermatosis's diagnostics selected were distributed as follows: 15 cases of Bullous Pemphigoid, 13 cases of Pemphigus (08 case of pemphigus vulgaris, 02 case of pemphigus Foliaceus, 02 cases of Pemphigus Seborrhoicus and a case of Pemphigus Herpetiformis), 03 cases of Epidermolysis Bullosa Acquisita, 03 cases of gestational Pemphigoid, 03 cases of Bullous lupus and a case of Cicatricial Pemphigoid.

The DIF has a variable degree of sensitivity and specificity depending on the nature of the AIBD: AIBD subepidermal has a high sensitivity and low specificity, apart from Dermatitis Herpetiformis and the Linear IgA Dermatitis that also have a high specificity. AIBD intra epidermal have a high sensitivity and high specificity.

According to the literature the level positivity of the DIF in the AIBD is very high. Which strengthen our study's results that were: 93% in Bullous Pemphigoid, 85% in the Group of Pemphigus, 100% in the gestational Pemphigoid, 100% in Dystrophic Epidermolysis Bullosa, 100% in the Bullous lupus and 100% in Cicatricial Pemphigoid.

The IFD has proved that it had great diagnostic's value in autoimmune Bullous dermatosis. It allows to confirm a diagnosis when the clinic and histology are compatible, to decide in a clinical and/or histologic diagnosis uncertainty and to eliminate clinical and/or histologic diagnosis allowing to choose another.

ملخص

الفقاعية المنيعية للذات تشكل مجموعة من الأمراض الغير متجانسة التي هي متنوعة و ذات تنبأت متغيرة و خطيرة أحيانا. هذا التنوع يوجب الجمع بين الفحص السريري، التشريح الدقيق والإشعاع المناعي المباشر الجلدي.

تطبيق تقنية الإشعاع المناعي المباشر على الخزع الجلدية للبحث عن مضادات الجينات الخلوية أو النسيجية مكن تحسين شخيص الجلادات الفقاعية المنيعية للذات. مبدأ هذه التقنية يعتمد على إيجاد مضادات الجينات في الخزع الجلدية من خلال وضع مضادات الأجسام الخاصة بها و التي تصبح مشعة بعد إضافة الفلوروكروم.

هذا العمل هو عبارة عن دراسة رجعية أقيمت في مختبر التشريح الدقيق بالمستشفى الجامعي الحسن الثاني من خلال مراجعة ملفات مرضى مصلحة الأمراض الجلدية بنفس المستشفى و المستفيدين من تقنية الإشعاع المناعي الذاتي خلال الفترة الزمنية الممتدة من ٢٠١٠ إلى ٢٠١١ ومنه حصلنا على 43 حالة.

التشخيصات النهائية كانت كما يلي: ١٥ حالة فقعان فقاعي، ١٣ حالة فقاع (٨ حالات فقاع شائع، ٥ حالات فقاع جلدي دهني، ٥ حالات فقاع قرطاسي و حالة فقاع حلئي)، ٣ حالات فقعان ندبي، ٣ حالات فقعان حملي، ٣ حالات انحلال البشرة الفقاعي المكتسب و حالة ذأب فقاعي، حالات تسمم جلدي، حالت حكاك فقاعي وحالة حمام متعدد الأشكال..

الإشعاع المناعي المباشر يتوفر على درجات متغيرة من الحساسية و التخصص حسب طبيعة الجلاد الفقاعي المنيع للذات. بالنسبة للجلاد الفقاعي المنيع للذات تحت

البشرة يتميز بحساسية عاكية و تخصص ضعيف إلا الجلاد الخطي و إتهاب الجلد الجلئي الجلادات الفقاعية المنيعية للذات داخل البشرة تتوفر على حساسية و تخصص مرتفعين.

حسب مختلف الدراسات، نسبة إيجابية الإشعاع المناعي المباشر في الجلادات الفقاعية المنيعية للذات جد مرتفعة، و ذلك على غرار دراستنا.

الإشعاع المناعي المباشر تمكن من البرهنة على أنه يتوفر على قيمة تشخيصية جد عالية في الجلادات الفقاعية المنيعية للذات . فهو يمكن من تأكيد التشخيص السريري و/أو التشريح الدقيق، من التمييز بين التشخيص السريري و/أو التشريح الدقيق، و من إقصاء التشخيص السريري و/أو التشريح الدقيق.

BIBLIOGRAPHIE

1 : Lapeyre-lienard., Joly P.

Dermatoses bulleuses.

EMC Traité de Médecine AKOS, 2-0715,2009

2 : CRIBIER B, GROSSHANS E.

Histologie de la peau normale et lésions histopathologiques élémentaires.

Encycl Méd Chir 1994 ; 12-220-A-10.

3: BEUTNER E, BAUGHMAN R, AUSTIN B.

A case of dermatitis herpetiformis with IgA endomysial antibodies but negative direct immunofluorescent findings.

J AM Acad Dermatol 2000; 43; 2 : 329-332.

4: BERNARD P, JOLY P, CLAUDY A.

Dermatose bulleuse de l'adulte.

Ann dermatol venerol 2002; 129 : 2S232- 2S237.

5 : COZZANI E, CACCIAPUOTI M.

Adhesion molecules in keratinocyte.

Clinics in Dermatology 2001;19: 544-550.

06 COZZANI E, CACCIAPUOTI M.

Desmosomes and their autoimmune pathologies.

Eur J Dermatol 2000; 10: 255-61.

7 : AMAGAI M, TSUNODA K, ZILLIKENS D.

The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile.

Journal of the American Academy of Dermatology 1999; 40; 2 : 167-169.

8 : DING X, DIAZ L, FAIRLEY J.

The anti-desmoglein 1 autoantibodies in pemphigus vulgaris sera are pathogenic.

The journal of investigative dermatology 1999; 112; 5 : 739-743.

9 : THIVOLET J.

Bullous disorders: from histology to molecular biology.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 538-543.

10 : MAHONEY M, WANG Z.

Explanations for the clinical and microscopic localization at lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris.

The Journal of Clinical Investigation 1999; 103; 4: 461-468.

11 : BEUTNER E, BAUGHMAN R, AUSTIN B.

A case of dermatitis herpetiformis with IgA endomysial antibodies but negative direct immunofluorescent findings.

J AM Acad Dermatol 2000; 43; 2 : 329-332.

12 : BURGESSON R, CHRISTIANO A.

The dermal-epidermal junction.

Current Opinion in Cell Biology 1997; 9 : 651-658.

13 : GHOHESTANI R.

Molecular organization of the cutaneous basement membrane zone.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 551-562.

14 : KANITAKIS J, CLAUDY A.

Immunopathologie cutanée.

Encycl méd chir 2000; 98-090-A-10.

15 : CHAN L.

Human skin basement membrane in the health and in autoimmune diseases.

Front Biosci 1997; 15; 2 : 343-352.

16 : GEORGI M, JAINTA S, BROCKER EB, ZILLIKENS D.

Autoantigens of subepidermal bullous autoimmune dermatoses.

Hautarzt 2001 D;52; 12: 1079-89.

17: LIN M, FU CL, OLAGUE-MARCHAN M, HACKER MK, ZILLIKENS D.

Autoimmune responses in patients with linear IgA bullous dermatosis: both autoantibodies and T lymphocytes recognize the NC16A domain of the BP180 molecule.

Clin Immunol 2002; 102; 3: 310-9.

18 : BARNADAS M, GONZÁLEZ J, PLANAGUMÀ M.

Clinical, histopathologic, and therapeutic aspects of subepidermal autoimmune bullous diseases with IgG on the floor of salt-spirit skin.

International Journal of Dermatology 2001; 40 : 268-272.

19 : VECCHIETTI G, LAFFITTE E.

La pemphigoïde bulleuse: une cause de prurit chez la personne âgée a ne pas manquer.

Médecine&Hygiène 2001 ; 2345 : 1004-1009.

20 : ZILLIKENS D, ISHIKO A, JONKMAN M.

Autoantibodies in anti-p200 pemphigoid stain skin lacking laminin 5 and type VII collagen.

British Journal of Dermatology 2000; 143: 1043-1049.

21 : KOEPEL M.

Immunopathologie cutanée.

Encycl méd chir 2-1989; 12222 A10.

22 : MUTASIM D, PELC N.

Established methods in the investigation of bullous diseases.

Dermatologic clinics 1993; 11; 3: 399-418.

23 : NGPP, TANSI, TANT.

Lupus erythematosus panniculitis: a clinicopathologic study.

Int J Dermatol 2002; 41; 8: 488-9.

24 : PARODI A, CAPRONI M.

Clinical, histological and immunopathological features of 58 patients with subacute cutaneous lupus erythematosus.

Dermatology 2000; 200: 6-10.

25 : BEUTNER E.

The development of immunofluorescence and the immunopathology of the skin.

International Journal of Dermatology 2003; 42 : 99-109

26 : VASSILEVA S.

Immunofluorescence in dermatology.

International Journal of Dermatology 1993; 32; 3: 153-161.

27 : MORRISON L.

When to request immunofluorescence: practical hints.

Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery 1999;18; 1: 36-42.

28 : MURAMATSU T, LIDA T, HONOKI K.

Pemphigus vulgaris preceded by herpetiform-like skin lesions with negative immunofluorescence findings.

The journal of Dermatology 1999; 26: 154-159.

29 : RAGHUAR, NIRMALA NR, SREEKUMARAN N.

Direct immunofluorescence in oral lichen planus and oral lichenoid reactions.

Quintessence Int 2002; 33; 3: 234-9.

30 : GRIMWOOD R.

Long-term preservation of direct immunofluorescence staining in slides stored at room temperature.

J Cutan Pathol 2000; 27: 224-227.

31 : BARNADAS M, GELPI C, CUREL R, MORAGAS M.

Repeat direct immunofluorescence (DFI) test, using 1 M NaCl treated skin, in the subepidermal autoimmune bullous diseases that contain IgG at the dermal epidermal junction.

Journal of Cutaneous Pathology 1999; 26 : 37- 41.

32 BARNADAS M, PUJOL R, CURELL R.

Generalized pruritic eruption with suprabasal acantholysis precedents the development of bullous pemphigoid.

Journal of Cutaneous Pathology 2000; 27: 96-98.

33 : BEYLOT-BARRY M, DOUTRE S, BEYLOT C.

La pemphigoïde dysidrosique.

Ann Dermatol Venerol 1995; 122 : 81-83.

34 : COURVILLE P, KUPFER I, GILBERT D, THOMINE E.

Evaluation des critères histologiques de pemphigoïde bulleuse. Relation avec les antigènes reconnus en immunotransfert par les auto-anticorps anti-épiderme.

Ann Pathol 2000; 20; 6 : 564-569.

35 : KIPPES W, SCHMIDT E, ROTH A, RZANY B.

Immunopathologic changes in 115 patients with bullous pemphigoid.

Hautarzt 1999; 50; 12: 866-72.

36 : SCOTT J, RAZZAQUE A.

The blistering diseases.

Medical clinics of north america 1998; 82; 6 : 1239-1283

37 GATELY, NESBITT L.

Update on immunofluorescent testing in bullous diseases and lupus erythematosus.

Dermatologic clinics 1994; 12; 1 : 133-142.

38 : SAYAG J, AQUILINA CH.

Pemphigus.

Encycl Méd Chir 1990; 12460A10.

39 : SCRIVENER Y, CRIBIER B.

Érythrodermie avec dépôts d'immunoglobulines le long de la membrane basale : pemphigoïde érythrodermique ?

Ann Dermatol Venerol 1998 ; 125: 13-17.

40 GHOHESTANI R.

Bullous pemphigoid: from the bedside to the research laboratory.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 690-696.

41 BARTHELEMY H, OHRT C, THIVOLET J.

Etude immunopathologique de la pemphigoïde bulleuse, de la pemphigoïde cicatricielle et de l'herpes gestationis.

Ann Dermatol Venerol 1985 ; 112 : 403- 410.

42 CHAN L.

Mucous membrane pemphigoïde.

Clinics in Dermatology 2001; 19 : 703-711.

43 EGAN C, YANCEY K.

The clinical and immunopathological manifestations of anti-epiligrin cicatricial pemphigoid, a recently defined subepithelial autoimmune blistering disease.

Eur J Dermatol 2000 ; 10: 585-9.

44 : BICKLE K, ROARK T.

Autoimmune bullous dermatoses : A review.

American family physician 2002; 65; 9 : 1861-1870.

45 DELAPORTE E, PIETTE F, JANIN A.

Pemphigoïde stimulant une épidermolyse bulleuse acquise.

Ann Dermatol Venerol 1995 ; 122 : 19-22.

46 : HALLEL-HALEVY D.

Epidermolysis bullosa acquisita: update and review.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 712-718.

47 :Les dermatoses bulleuses auto-immunes:

annals de dermatologie et de venerologie (2008) 135S, F95-F102

48 : WOOLLONS A, DARLEY C, BHOGAL B.

Childhood dermatitis herpetiformis : an unusual presentation.

Clinical dermatology 1999; 24: 283-285.

49 : DEMOULINS-GIACCO N, GAGEY V.

Dermatite herpétiforme survenant chez des patients atteints de maladie coeliaque dans l'enfance.

Arch Pédiatr 1996 ; 3 : 541-548.

50 : EGAN C, O'LOUGHLIN S.

Dermatitis herpetiformis: a review of fifty-four patients.

I.J.M.S 1997; 166; 4 : 241-244.

51 : RIVOLLIER C, VAILLANT L.

Pemphigus paraneoplasique: une forme pustuleuse au cours d'une leucemie lymphoïde chronique.

Ann Dermatol Venerol 2001 ; 128 : 644-8.

52 : SAMI N, RAZZAQUE A.

Dual diagnosis of pemphigus and pemphigoid.

Dermatology 2001; 202: 293-301.

53 SMITH E, ZONE J.

Dermatitis herpetiformis and linear IgA bullous dermatosis.

Dermatologic clinics 1993; 11; 3 : 511-526.

54 SOUSA L, BAJANCA R.

Dermatitis herpetiformis : should direct immunofluorescence be the only diagnostic criterion ?

Pediatric Dermatology 2002; 19; 4: 336-339.

55 BERARD F, KANITAKIS J, DI MAIO M, GHOHESTANI R.

Dermatose bulleuse à IgA linéaire de l'enfant avec autoanticorps dirigés contre l'antigène 180 kDa de la pemphigoïde.

Arch Pédiatr 1996 ; 3 : 345- 347.

56 COHEN D, BHATTACHARYYA I, ZUNT L.

Linear IgA diseases histopathologically and clinically masquerading and lichen planus.

Oral surgery oral medicine oral pathology 1999; 88; 2 : 196-201.

57 : SHERIDAN A, KIRTSCHIG G.

Mixed immunobullous disease: is this linear igA disease?

Australasian Journal of Dermatology 2000; 41: 219-221.

58 : KANOKVALAI K, PIAMPHONGSANT T.

Linear IgA bullous dermatosis of childhood: a long term study.

J Med Assoc Thai 1999; 82; 7: 707-712.

59 : TURKI H, MSEDDE M, BOUASSIDA S.

Dermatose bulleuse à IgA linéaire de l'enfant : etude de 8 cas.

Ann de pediatrie 1998; 45; 1: 19-24.

62 DIAZ L, GIUDICE G.

End of the century overview of skin blisters.

Arch dermatol 2000; 136 : 106-112.

60 : ALIBERT,

Précis sur les maladies de la peau

Avant-propos, XV dans FondsBARBIER; 1814.

61 : P.Joly;

Maladies bulleuses auto-immunes

Rev Med Interne 1999 ;20 ;26-38.

63 : HAHN K, KIPPES W, AMAGAI M, RZANY B, BROCKER EB, ZILLIKENS D.

Clinical aspects and immunopathology in 48 patients with pemphigus.

Hautarzt 2000; 51; 9 : 670-7.

64 : SELASSI DINA.

Pemphigus : mise au point thérapeutique.

Thèse méd Casablanca 1997 ; 229.

65 : MAYNARD U, PETERS MS.

Histologic and immunofluorescence study of cutaneous porphyrias.

J Cutan Pathol 1992;19; 1: 40-7.

66 : SALMHOFER W, KAWAHARA Y.

A subepidermal blistering disease with histopathological features of dermatitis herpetiformis and immunofluorescence characteristics of bullous pemphigoid: a novel subepidermal blistering disease or a variant of bullous pemphigoid?

British Journal of Dermatology 1997; 137: 599-604.

67 : RYBOJAD M, DUCLOY G.

Pemphigus superficiel sporadique de l'enfant: 2 observations.

Ann Dermatol Venerol 1999 ; 126: 41-3.

68 : NOUSARI H, ANHALT G.

Pemphigus and bullous pemphigoid.

The lancet 1999; 354: 667-672.

69 : HASHIMOTO T.

Immunopathology of IgA pemphigus.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 683-689.

70 : HASHIMOTO T.

Immunopathology of paraneoplastic pemphigus.

Clinics in Dermatology 2001; 19: 675-682.

71 : Saurat.JH, Grosshans.E, Laugier.P, Lachapelle.JM, Lipsker.D, Thmas.I, Lacour.JP, Naeyaert.JM, Salomon.D, Braun.R ;

Dermatologie et infections sexuellement transmissibles ;

5^{ème} édition ;2006.

72 : P Martel, P Joly.

Pemphigus.

Encycl Méd Chir 2001 ; 98-250-A-10.

73 : B.Cribier;

Histologie cutanée: Pemphigus;

Ann Dermatol Venerol 2003;130:227-9.

74 :Robinson ND, Hashimoto T, Amagai M, Chan LS ;

The new pemphigus variants;

J Am Acad Dermatol. 1999 May; 40(5 Pt 1):649-71; quiz 672-3.

75 : MUTASIM D, ADAMS B

Immunofluorescence in dermatology.

J am acad dekmato 2001; 45; 6 : 803-824