

UNIVERSITE MOHAMMED V- RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT

ANNEE : 2015

THESE N° : 139

LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET LE DIAGNOSTIC DES MALADIES CUTANÉES

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mme MORSE NOHA

Née le 20 Octobre 1988 à Ouezzane

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Biologie moléculaire – dermatoses – enfant- diagnostic moléculaire.

JURY

Mr. A. BENTAHILA

Professeur de Pédiatrie

PRESIDENT

Mme. F. JABOUIRIK

Professeur de Pédiatrie

RAPPORTEUR

Mme M.Boujoul

Professeur A en gynécologie obstétrique

Co-RAPPORTEUR

Mme. F. MANSOURI

Professeur d'Anatomie-Pathologie

Mme. S. El HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم"

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
Pr. TAOBANE Hamid*

Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif

Chirurgie Thoracique

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI

Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – *Clinique Royale*
Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima
Pr. BENSAID Younes
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –*Doyen de la FMPR*
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida

Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –*Doyen de la FMPO*
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation

Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz

Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie *Inspecteur du SS*
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – *Dir. HMIM*
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Directeur ERSM*
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-ptisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie

Pr. EL HIJRI Ahmed
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 Pr. EL MADHI Tarik
 Pr. EL OUNANI Mohamed
 Pr. ETTAIR Said
 Pr. GAZZAZ Miloudi*
 Pr. HRORA Abdelmalek
 Pr. KABBAJ Saad
 Pr. KABIRI EL Hassane*
 Pr. LAMRANI Moulay Omar
 Pr. LEKEHAL Brahim
 Pr. MAHASSIN Fattouma*
 Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine
 Pr. SABBAH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. EL MANSARI Omar*
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie

Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Noureddine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane

Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-
Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie

Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nouridine

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie

Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*

Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo ptisiologie
Hématologie biologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie

Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. AZENDOUR Hicham*
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. ZOUHAIR Said*

Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-ptisiologie
 Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique

Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghir Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie biologique
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie

Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAIHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERREGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCI Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



Dédicaces



*A mon très cher et adorable père :
MORSSSE Abdelmajide*

*Ce modeste travail est le fruit de tout sacrifices déployés
pour notre éducation.*

*Vous avez toujours souhaité le meilleur pour nous.
Vous avez fournis beaucoup d'efforts aussi bien physiques et
moraux à notre égard.*

*Vous n'avez jamais cessé de nous encourager et de prier
pour nous.*

*C'est grâce à vos percepts que nous avons appris à compter
sur nous-mêmes.*

*vous méritez sans conteste qu'on vous décerne les prix « Père
Exemplaire ».*

*Père : je t'aime et j'implore le tout puissant pour qu'il
t'accorde une bonne santé et une vie heureuse.*



*A ma très chère et adorable mère :
LABOUDI Amina*

*Les mots semblent parfois si dénués de sens qu'il est difficile de
trouver des expressions qui puissent traduire mon amour, mon
attachement, et ma reconnaissance pour tous les efforts que tu as
fournis à mon égard.*

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence,
La source de tendresse, et l'exemple du dévouement qui n'a pas
cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour
Mener à bien mes études et ma vie toute entière.*

*Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants
suivent le bon chemin dans leurs vies et leurs études.*

*Tu as été toujours là pour moi, Ce travail n'aurait pu prendre de
forme sans ton soutien inconditionnel conjugué à l'affection dont
tu n'as cessé de m'entourer.*

Je t'aime du plus profond de mon cœur.

Puisse DIEU le grand puissant te donner bonne santé et longue vie.



*A mon très cher mari :
El BAKKARI Issam*

*Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie,
Mon âme sœur et la lumière de mon chemin.
Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises.
Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel,
ta gentillesse sans égal, ton profond attachement
m'ont permis de réussir mes études.
Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements
ce travail n'aurait vu le jour.
Que Dieu réunisse nos chemins pour un long
commun serein et que ce travail soit témoignage
de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*



*A mon cher frère mohamed chadi,
et ma petite sœur Tasnim*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection
et l'amour que je vous porte.*

Vous êtes pour moi une source de joie, de bonheur et d'inspiration.

*J'espère que vous trouverez dans cette thèse l'expression
de mon affection la plus sincère.*

*Je vous souhaite un avenir florissant et une vie pleine
de bonheur, de succès, de santé et de prospérité.*

Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.

A Ma chère grand-mère maternelle Aicha khamlichhi

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux
que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.*

Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A la mémoire de mes grands-pères et ma grand-mère

BAINOUTI Habiba

*Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur,
je vous dédie aujourd'hui ma réussite.*

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.



*A mes chers oncles Mohamed Rafik Mustapha Hamza
Oussama et Abdelhak*

A mes chères tantes Imane Rachida Nadia et Taliba

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de ma profonde
affection et ma reconnaissance pour les encouragements et les
efforts que vous avez fournis pour la réalisation de ce travail.
Qu'il me soit permis de vous assurer à jamais mon soutien, mon
respect et ma profonde affection.*

*Que dieu puissant vous accorde une vie pleine de bonheur, de joie,
de santé et de succès.*

A mes oncles et mes tantes paternels

A mon petit cousin Mahmoud

Mes cousin et cousines

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de
ma gratitude et de mon profond respect.*



*A mon beau père Monsieur Abdelsalam et
Ma chère belle-mère Mme Houriya*

*Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille.
Je vous prie de trouver dans ce travail l'expression
de mon amour, mon estime et ma reconnaissance.
Puisse Dieu, le tout puissant, vous protéger et vous accorder
meilleure santé et bonheur éternel.*

A mes beaux-frères Asaad et Réda

*Quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour
et la tendresse que j'ai pour vous.
Je vous remercie, pour votre support et vos encouragements,
et je vous dédie ce travail, pour tous les moments de joie
et de taquinerie qu'on a pu partager ensemble.
Puisse DIEU, le tout puissant, vous préserver du mal,
vous combler de santé et de bonheur.*



A mes amis et mes collègues

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer
mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et des
sœurs sur qui je peux compter*

*Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, de votre
soutien et de votre serviabilité.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les
moments que nous avons passé ensemble,*

*Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé
et de bonheur.*

*Que Dieu vous protèges et vous procures joie et bonheur et que
Notre amitié reste à jamais.*

*A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis
Involontairement de citer.*

*A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser mes rêves et participé de près
ou de loin à la réalisation de ce travail.*



Remerciements



*A Notre Maître et Président de Thèse
Monsieur le Professeur A.BENTAHILA
Professeur de Pédiatrie*

*Vous avez aimablement accepté de présider le jury de cette thèse,
nous en sommes touchés.*

*Lors de nos années d'études universitaires, nous avons eu la
Chance de compter parmi vos étudiants ; nous avons ainsi pu
apprécier la clarté et la précision de l'enseignement que vous
nous avez dispensé.*

*Avec tout le respect que nous vous devons, veuillez trouver ici,
L'expression de notre profond respect et nos vifs remerciements.*



A Notre Maître et Rapporteur de Thèse

Madame le Professeur F.JABOUIRIK

Professeur de Pédiatrie

Nous tenons à vous déclarer nos remerciements les plus sincères

*Pour avoir accepté de diriger ce travail et avoir vérifié à son
élaboration avec patience et disponibilité.*

Votre dévouement au travail, votre modestie et votre gentillesse

*imposent le respect et représentent le model que nous serons
toujours heureux de suivre. Mais au-delà de tous les mots de
remerciements que nous vous adressons, nous voudrions louer en
vous votre amabilité, votre*

*courtoisie et votre générosité. Ce fut très agréable de travailler avec
vous pendant cette période.*

*Puisse ce travail être à la hauteur de la confiance que vous nous
avez accordée.*



A Notre Maître et Juge de Thèse
Madame le Professeur F. MANSOURI
Professeur d'Anatomopathologie

*Je vous remercie vivement de l'honneur que vous me faites en
acceptant de juger notre travail.*

Je vous en suis très reconnaissante.

*Vos qualités professionnelles et la sympathie que vous témoignez
à tous ceux qui vous sollicitent suscitent notre admiration.*

*Qu'il me soit permis de vous exprimer mon profond respect
et ma grande considération.*



A Notre Maître et Juge de Thèse
Madame le Professeur S.EL HAMZAOUI
Professeur de Microbiologie

*Nous sommes très touchés et reconnaissants de la spontanéité
et la gentillesse avec laquelle vous nous avez reçu et accepté
de juger notre travail.*

*Nous avons bénéficié au cours de nos études, de votre enseignement
clair et précis. Votre gentillesse,
vos qualités humaines, vos modesties n'ont rien d'égal que votre
compétence. Vous nous faite l'honneur de juger ce modeste travail.
Veuillez trouver, chère maître, dans ce travail l'expression
de notre reconnaissance et notre très haute considération.*



A Notre Maitre et Co-Rapporteur de Thèse

Madame le Professeur M. BOUJOUAL

Professeur de Gynécologie Obstétrique

*Vous avez aimablement accepté de nous aider dans cette thèse,
nous en sommes touchés.*

*Avec tout le respect que nous vous devons, veuillez trouver ici,
l'expression de notre profond respect et nos vifs remerciements.*



À tous mes enseignants :

*J'adresse également mes remerciements,
à tous mes enseignants de la faculté de médecine et de pharmacie
de Rabat, qui m'ont donné les bases de la médecine
et dont les sages conseils m'ont poussé à surpasser toutes difficultés
et à finir cette formation.*

*Veillez accepter l'expression de ma profonde
gratitude et énorme respect pour votre soutien,
encouragements, disponibilités, efforts, sacrifices et affection*





ILLUSTRATIONS



Liste des figures

Figure 1: structure en double hélice de l'ADN.....	13
Figure 2 : structure d'un nucléosome.....	15
Figure 3: Méthode de SOUTHERN blot.....	21
Figure 4: Principe de la PCR.....	24
Figure 5: Principe de la PCR Nichée (ou Nested PCR).	30
Figure 6: Technique RT-PCR.	38
Figure 7 : Cycle PCR utilisant CYBER GREEN.....	40
Figure 8 : le suivi en temps réel d'une réaction PCR.....	41
Figure 9 : verrues du visage chez un enfant suivis à l'hôpital d'enfant Rabat (HER)	57
Figure 10: verrues de la main(HER)	57
Figure 11 : verrue plantaire.....	58
Figure 12:condylome anale(HER).	58
Figure 13: Primo-infection herpétique chez un nourrisson.....	61
Figure 14 : gingivostomatite chez un enfant (HER).....	61
Figure 15: Herpès récurrent digital.....	62
Figure 16: varicelle du visage(HER).....	63
Figure 17: zona thoracique(HER).	64
Figure 18: zona ophtalmique (HER)	65
Figure 19: Cicatrices déprimées et gommages multiples.	68
Figure 20 : Scrofulodermes multiples en regard d'adénopathies cervicomaxillaires.....	68
Figure 21 : Grandes plaques d'une teigne tondante(HER).	72
Figure 22 ; Érythème fessier du nourrisson.	73
Figure 23 : taches café au lait(HER).	76
Figure 24 : Taches café au lait (HER).....	77
Figure 25 : Neurofibrome cutané(HER).	77
Figure 26 : Tache hypopigmentée	81
Figure 27 : angiofibromes faciaux (forme minime).....	81

Figure 28 : aspect hyperpigmentaire des lésions en « jet d'eau » au niveau du dos d'un nourisson.....	83
Figure 29: Vésiculo-bulles de disposition linéaire et d'âges différents au cours du incontinentia pigmenti.	84
Figure 30 : épidermolyse bulleuse simple forme Koebener(HER).....	86
Figure 31 : épidermolyse bulleuse jonctionelle form herlitz(HER).	87
Figure 32 : épidermolyse bulleuse jonctionelle acrale(HER)	87
Figure 33: les lésions cicatricielles avec grains de milium(HER).	88
Figure 34 : bébé collodion(HER).	93
Figure 35 : Ichtyose vulgaire chez un enfant de 6 ans(HER).....	94
Figure 36 : ichtyose lamellaire(HER).....	94
Figure 37 : Stade de début de Xeroderma pigmentosum.(HER)	100
Figure 38 : Xeroderma pigmentosum (Stade de l'érythème persistants s'accompagnant de macule achromique)(HER).	101
Figure 39 : stade dépacé de Xeroderma pigmentosum avec cancer cutané(HER).	101

Liste des Abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
ARN	: Acide ribonucléique.
PCR	: Polymerase Chain Reaction.
ARNm	: ARN messenger.
AN	: Acides nucléiques.
pb	: Paire de bases.
Kb	: Kilobase.
LIF	: Fluorescence induite par laser.
nm	: Nanomètre.
DO	: Densité optique.
ml	: Millilitre.
HIS	: Hybridation in situ.
FISH	: Fluorescent in situ hybridization.
Dntp	: Désoxynucléotide triphosphate.
BET	: Bromure d'ethidium.
Tm	: Melting temperature.
DGGE	: Denaturing gel gradient electrophoresis.
SSCP	: Single stained chain polymorphism.
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism.
ddNTP	: Didésoxynucléotide triphosphate.
RT	: Reverse transcription.
HER	: Hôpital d'enfant Rabat

HPV : Virus papillome humain.

NF1 : la neurofibromatose de type 1.

STB : la sclérose tubéreuse de Bourneville.

IP : Incontinentia pigmenti.

EBS : Epidermolyses bulleuses simples (EBS).

EBJ : Epidermolyses jonctionnelles.

EBD : Epidermolyses bulleuses dystrophiques.

NER : Nucleotide Excision Repair.

emPCR : PCR en émulsion.

HRM : high resolution melting.

GTP : Guanosine triphosphate.

GDP : Guanosine diphosphate.

ERCC : Excision repair cross complementation.



SOMMAIRE



Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : La biologie moléculaire

I-Historique.....	6
-------------------	---

II -Les techniques de base de la biologie moléculaire	9
---	---

A. Prélèvement et méthodes d'analyse des acides nucléiques.....	10
---	----

1- Structure de l'ADN	11
-----------------------------	----

2- Extraction de l'ADN.....	16
-----------------------------	----

3- Estimation des quantités d'ADN	18
---	----

B. Analyse de l'acide désoxyribonucléique.....	18
--	----

1- Hybridation in situ (HIS)	19
------------------------------------	----

2- Méthode de SOUTHERN blot	19
-----------------------------------	----

3- Réaction de polymérisation en chaîne ou polymerase chain reaction (PCR)	22
--	----

3-1-Principe de la méthode.....	22
---------------------------------	----

3-2- PCR-RFLP polymorphisme de longueur des fragments de restrictions.....	26
--	----

3-3- Avantages de la PCR :.....	27
---------------------------------	----

3-4-Les limites de la PCR	27
---------------------------------	----

3-5- les variantes de la technique	28
--	----

4- Analyse des mutations	31
--------------------------------	----

4-1-le séquençage direct : méthode de SANGER.....	31
---	----

4-2- séquençage indirect :.....	32
---------------------------------	----

C. Analyse de l'acide ribonucléique.....	34
--	----

1- la technique de NORTHERN-blot.....	35
---------------------------------------	----

2- la RT-PCR.....	36
-------------------	----

D. les nouvelles technologies :	39
1- La PCR en temps réel :	39
1-1-Principes :	39
1-2-Intérêts de la PCR en temps réel :	42
1-3-Applications :	43
2- Les puces à ADN :	43
3- Le séquençage haut débit :	46
4- La fusion haute résolution :	50

Chapitre II : l'apport de la biologie moléculaire en diagnostic dermatologique.

I-Diagnostic des affections acquises infectieuses	54
A. Virus des papillomes humains (VPH) :	55
B. Virus herpétiques et apparentés :	60
C. Virus d'immunodéficience humaine:	66
D. Les mycobactéries :	67
E. Mycoses :	70
II -Diagnostic des affections génétiques	74
A. la neurofibromatose de type 1 :	75
B. la neurofibromatose de type 2 :	79
C. la sclérose tubéreuse de Bourneville :	80
D. l'incontinentia pigmenti (IP) :	82
E. les épidermolyses bulleuses congénitales :	85
F. Ichtyoses :	92
G. Le xeroderma pigmentosum :	98

Conclusion.....	104
Résumés.....	107
Références bibliographiques.....	111



INTRODUCTION



La biologie moléculaire correspond à l'intégration de toutes les données moléculaires nécessaires à la compréhension des mécanismes biologiques. Le terme de biologie moléculaire utilisé couramment en biologie médicale désigne l'étude des acides nucléiques, l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN). Ces molécules sont à l'origine des phénomènes biologiques impliqués dans la structure et le fonctionnement des cellules et des organismes entiers. Ces phénomènes sont la synthèse, la modification et la dégradation des protéines, lipides et sucres, mais aussi des acides nucléiques eux-mêmes.

L'ADN est le support de l'information génétique. Ses modifications peuvent être à l'origine de pathologies congénitales ou acquises. Les travaux réalisés ces 30 dernières années ont permis une description extrêmement précise, des bases moléculaires de phénomènes observés chez différents organismes. L'identification de certaines modifications pathologiques du génome peut être réalisée en pratique courante. On peut détecter la présence d'ADN exogène, bactérien ou viral, dans un organisme humain. Il est désormais possible de manipuler les séquences d'acides nucléiques afin d'en contrôler l'expression dans des cultures cellulaires ou des organismes entiers. Utile dans un système expérimental, ce contrôle de l'expression des gènes pourrait également être à la base de traitements [1].

L'avènement de la biologie moléculaire a révolutionné la biologie et notamment la génétique et a permis, entre autres, de mieux comprendre les mécanismes physiopathologique des affections à transmission génétique mais également de certains affections acquises. La dermatologie a, au même titre que

d'autres disciplines médicales, largement bénéficié de ces techniques toujours plus performantes et faciles d'accès.

La biologie moléculaire possède deux types principaux d'applications en dermatologie pédiatrique, semblent se dessiner et sont d'ailleurs dans certains cas d'interdépendants :

- La recherche systématique des anomalies de l'information génétique (donc de l'ADN) dans les maladies génétiques et dans certaines affections acquises, notamment infectieuses afin de progresser dans la compréhension de ces affections, en particulier par l'identification des anomalies protéiques induites et de leurs conséquences physiopathologiques, à l'échelon moléculaire puis cellulaire et enfin tissulaire (relations génotype-phénotype). Une «chasse aux gènes» systématique a donc été initiée, particulièrement fructueuse en dermatologie et, même si beaucoup de travail reste à accomplir dans l'étude des relations génotype-phénotype, nos connaissances en physiologie cutanée ont tiré un grand bénéfice de l'analyse moléculaire des génodermatoses ;
- Le diagnostic de certaines affections tant acquises (infections) que génétiques (diagnostic pré- et postnatal) grâce à l'étude de certaines séquences d'acides nucléiques intéressantes (ADN surtout) au sein des échantillons biologiques, séquences et anomalies souvent identifiées grâce aux études physiopathologiques «fondamentales» qui permettent donc de rechercher des altérations très précises.

Une autre application est théoriquement représenté par les progrès thérapeutiques autorisés par cette accumulation de connaissances fondamentales et physiopathologiques, soit directe (thérapie génique), soit indirecte (correction des anomalies de fonctionnement par d'autres moyens). Cette approche reste toutefois très réduite, pour l'instant, aux applications in vitro et à quelques timides tentatives in vivo, d'autant plus qu'elle est confrontée à des questions éthiques d'une acuité inusitée. Seul l'avenir permettra de savoir si ce versant thérapeutique viendra couronner un édifice déjà impressionnant [2].

Enfin, de nouvelles données ne manqueront pas de s'ajouter à celles qui sont présentées dans ce panorama, entre sa rédaction et sa publication, les progrès étant quasi hebdomadaires...



Chapitre I : La biologie moléculaire

I-Historique :

L'époque fondatrice de la biologie moléculaire revient à la fin des années 1970 [1]. En effet, entre 1960 et 1969, quatorze prix Nobel de médecine (sur vingt-cinq attribués) ont récompensé les chercheurs ayant travaillé sur la génétique. Malgré le peu de répercussions sur la pratique médicale, ces recherches font entrer la médecine dans l'ère scientifique. Cette médecine dont le but n'est pas seulement de « guérir » mais aussi de garantir la bonne santé de la population avec une prévention efficace et un diagnostic urgent. La biologie moléculaire constitue un point de rencontre entre la génétique et la biochimie. Ainsi, elle a donné d'informations par l'intermédiaire des protéines et des enzymes.

L'histoire de la biologie moléculaire (synonyme de génie génétique ou génétique moléculaire) est pleine de noms importants. Elle a été fondée par les observations des savants tel que: **MENDEL** et **MORGAN**. Ceci était vers la fin des années 1800 et début des années 1900. Elle s'est occupée au début de trouver exactement les mécanismes de transmission héréditaire du patrimoine génétique qui caractérise la maintenance qu'elle soit dans l'espèce humaine, animale végétale ou dans les micro-organismes. Ces mécanismes sont restés longtemps inconnus.

Il a fallu attendre la deuxième partie du siècle pour avoir des progrès dans ce domaine.

En 1926, le biologiste français **LEJEUNE** rattache le mongolisme à la trisomie 21.

En 1944, **GRIFFITH** et le bactériologiste américain **AVERY** semblent être les premiers à avoir attiré l'attention sur l'ADN comme porteur d'informations génétique. Grâce à leur découverte, ces savants ont déclenché les recherches concernant la biologie moléculaire.

Vers les années 50, des grands travaux de biochimie sur la structure moléculaire de l'ADN réalisés par **CRICK, WILKINS** et **WATSON**. Ils ont démontré que la double hélice est composée de quatre molécules des base s'assemblant deux a deux et codant la production des acides aminés.

Ces recherches sont complétées dans les années 60 à l'Institut Pasteur à paris par le microbiologiste **LWOFF**, biochimiste **MONOD** et le généticien **JACOB** .ils expliquent comment l'ADN délivre des messages génétiques à travers l'ARN « messenger ». Également par les travaux de **KORNBERG, KHORANA** et **NIRENBERG** concernant la réplication de l'ADN et le code génétique.

En suite, et vers les années 70, viennent les recherches de **ARBER** et **BOYER** pour parler des enzymes de restriction et expliquer le clonage moléculaire, et la description initiale de la méthode de SOUTHERN par **EDWIN Southern** en 1975 [1][3].

Au cours de cette première époque fondatrice de la biologie moléculaire, les savants conservant une approche presque théorique.

Cette période sera relayée dans les années 80 par une approche pratique. C'est ainsi qu'il y a eu la mise au point d'une technique révolutionnaire : la PCR (Polymerase Chain Reaction). Celle-ci, a rendu l'usage de ces techniques de la biologie moléculaire accessible à de nombreux laboratoires dans le cadre du diagnostic. En effet, en 1985, les travaux de **KB MULLIS** et **BRINSTER** ont permis la découverte de la technique de la PCR [4]. Celle-là était décrite exactement en 1987 par les mêmes chercheurs [5]. Elle a permis d'envisager à grande échelle son application au diagnostic des maladies infectieuses. Les agents infectieux étaient repérables par l'amplification des séquences les plus spécifiques possibles de leur matériel génétique. En 1988, il y a eu l'application de la PCR pour la première fois sur le virus du sida.

L'histoire de la biologie moléculaire est encore continuée. En effet, les travaux des années 90 réalisés par **ANDERSON**, **BORDIGNON** et autres concernant la thérapie génétique, ainsi l'annonce officielle de l'achèvement du séquençage du génome humain en 2003, et le premier séquençage d'un individu unique en 2007.

Ainsi, avec les progrès, notamment de la bio-informatisation des techniques de la biologie moléculaire, les applications de biologie moléculaire sont considérables. En ce qui nous concerne ces applications en dermatologies clinique sont potentielles et les demandes des cliniciens seront pressantes.

II -LES TECHNIQUES DE BASE DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

A. Prélèvement et méthodes d'analyse des acides

nucléiques :

Les acides nucléiques dans la cellule sont de deux types :

- L'acide désoxyribonucléique (ADN), enchainement de 3 milliards de nucléotides chez l'Homme répartis sur 46 chromosomes, appelé ADN génomique ;
- L'acide ribonucléique (ARN), lien entre le génotype (l'ADN) et le phénotype (la protéine).

Ces deux acides, même s'ils ne diffèrent que par l'absence d'un oxygène au niveau d'un sucre (le désoxyribose) de l'ADN par rapport à l'ARN, n'ont pas les mêmes caractéristiques physicochimiques et ne donneront pas les mêmes informations en biologie moléculaire [6].

Au cours des trois dernières décennies, l'analyse des acides nucléiques a fait l'objet de développements technologiques considérables, évoluant de méthodes de laboratoires manuelles, complexes et réservées à un personnel spécialisé à des méthodes entièrement automatisées accessibles à tous les biologistes. De plus, longtemps cantonné aux sciences fondamentales, le champ d'application de ces méthodes s'est étendu à l'ensemble des disciplines biomédicales.

Les avancées technologiques majeurs qui ont été à la base de ces bouleversements sont l'invention de la PCR, le développement de séquençage du génome humain et enfin, la PCR en temps réel.

Ces tests sont réalisés sur l'ADN extrait des leucocytes du patient sur tube EDTA et le fragment du gène à étudier est amplifié par PCR. Des automates sont capables d'extraire simultanément les ADN provenant de plusieurs centaines d'échantillons, puis des robots PCR sont à leur tour capables d'amplifier simultanément les fragments d'intérêt issus de ces échantillons. Ensuite, plusieurs méthodes différentes peuvent être utilisées pour identifier l'anomalie génétique.

1- Structure de l'ADN :

L'ADN est essentiellement localisé dans le noyau des cellules. Il contient l'information et le programme génétique, ce qui lui permet de jouer un rôle fondamental dans la conservation, dans la transmission des caractères héréditaires et dans la synthèse protéique. C'est une macromolécule constituée par l'enchaînement des plusieurs nucléotides :

- ❖ Un nucléotide qui correspond à l'union entre un nucléoside et une ou plusieurs molécules d'acides phosphoriques. La liaison se fait par le C5' du désoxyribose ;
- ❖ Un nucléoside est l'union entre une base azotée et le sucre, la liaison osidique se fait entre le C1' du sucre et l'azote N1 des bases pyrimidiques ou N9 des bases puriques ;
- ❖ Les bases azotées de l'ADN sont des composés azotés cycliques classés par leur nombre de noyaux ;
- ❖ Le sucre est le 2-désoxy-b-D-ribose ;
 - Les bases puriques à 2 noyaux : adénine **A** ; guanine **G** ;

- Les bases pyrimidiques à 1 noyau : cytosine **C** ; thymine **T**.
- ❖ L'acide phosphorique est un triacide. Deux des trois fonctions acides seront estérifiées dans l'ADN.

On pourrait pour simplifier représenter un nucléotide comme suit :

Nucléotide = acide phosphorique +sucre +base

Nucléoside =sucre +base

La structure primaire de l'ADN correspond à la polymérisation des nucléotides dans le sens 5'→3'. La structure secondaire de l'ADN est formée par deux chaînes polynucléotidiques anti parallèles reliées par des ponts hydrogènes entre bases complémentaires : deux liaisons hydrogènes entre A et T et trois liaisons hydrogènes entre C et G [7].

L'ADN est dit bicaténaire. Selon Watson et Crick, il serait formé de deux chaînes s'enroulant l'une autour de l'autre, formant ainsi une double hélice dont l'axe central commun serait constitué par les ponts hydrogènes qui unissent les bases complémentaires (figure1).

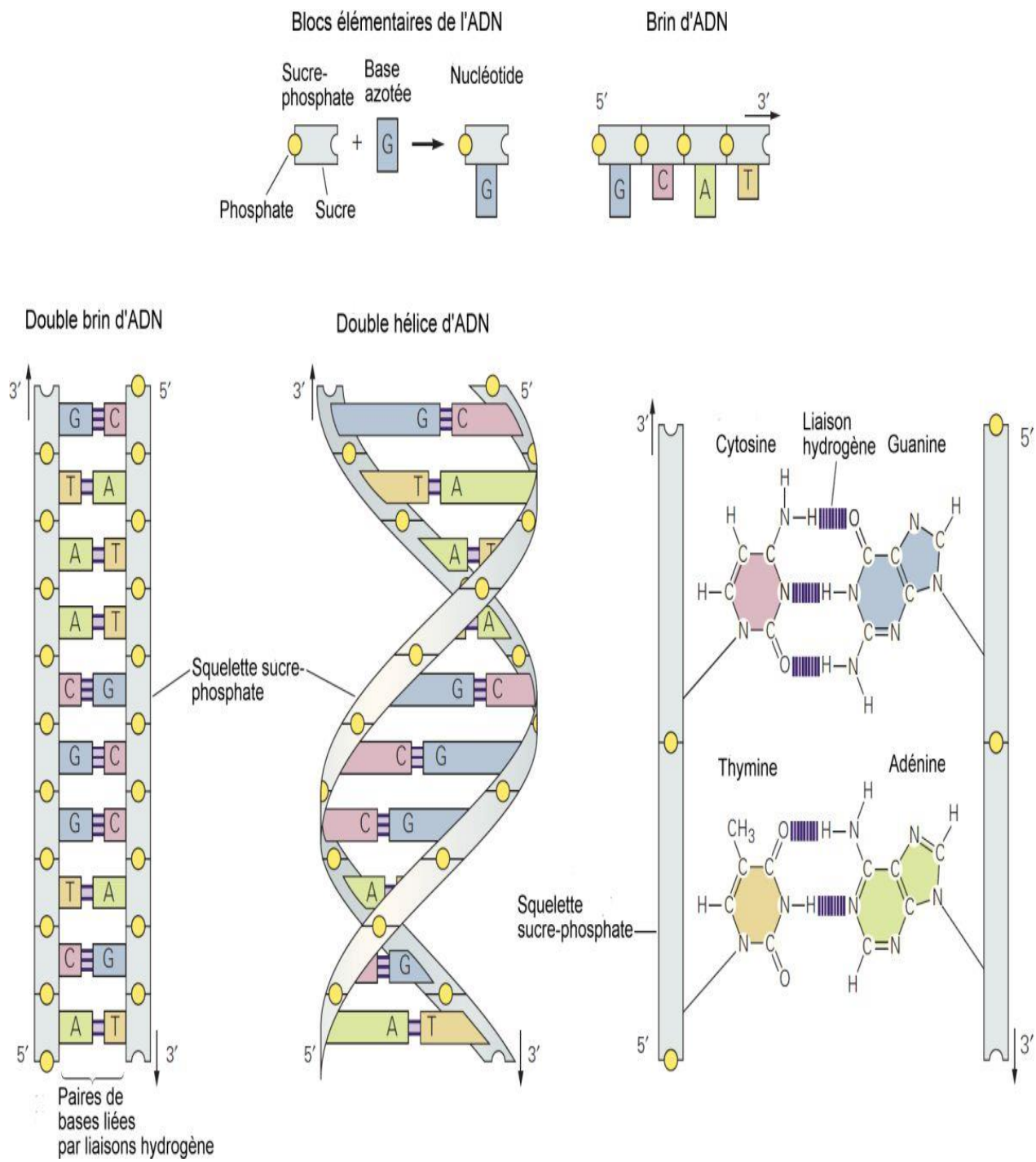


Figure 1: structure en double hélice de l'ADN[10].

Par convention, on lira toujours une chaîne d'acide nucléique dans le sens 5'P vers 3'OH. Les deux chaînes d'ADN ont trois propriétés principales, elles sont :

- Antiparallèles : les deux brins sont parallèles mais dans des directions opposées ;
- Complémentaires et ;
- Hélicoïdales : les deux chaînes s'enroulent autour d'un axe central imaginaire en formant une double hélice droite.

L'ARN présente trois différences principales par rapport à l'ADN :

- L'uracile U : base pyrimidique qui remplace la thymine ;
- Le sucre est le ribose au lieu du désoxyribose de l'ADN ;
- L'ARN est monocaténaire.

❖ Les histones et les protéines non histones :

Les histones :

Ce sont les protéines basiques chargées positivement, riches en acides aminés tels que l'arginine et la lysine. Leur charge positive leur permet de former avec l'ADN (chargé négativement grâce aux fonctions acides libres des molécules H_3PO_4) des liaisons ioniques. Ces liaisons non covalentes justifient que la condensation de l'information génétique n'empêche pas l'accessibilité au code génétique et son expression. L'unité de condensation de l'ADN est le nucléosome (146 paires de bases s'enroulant autour d'un octamère d'histones) (figure2).

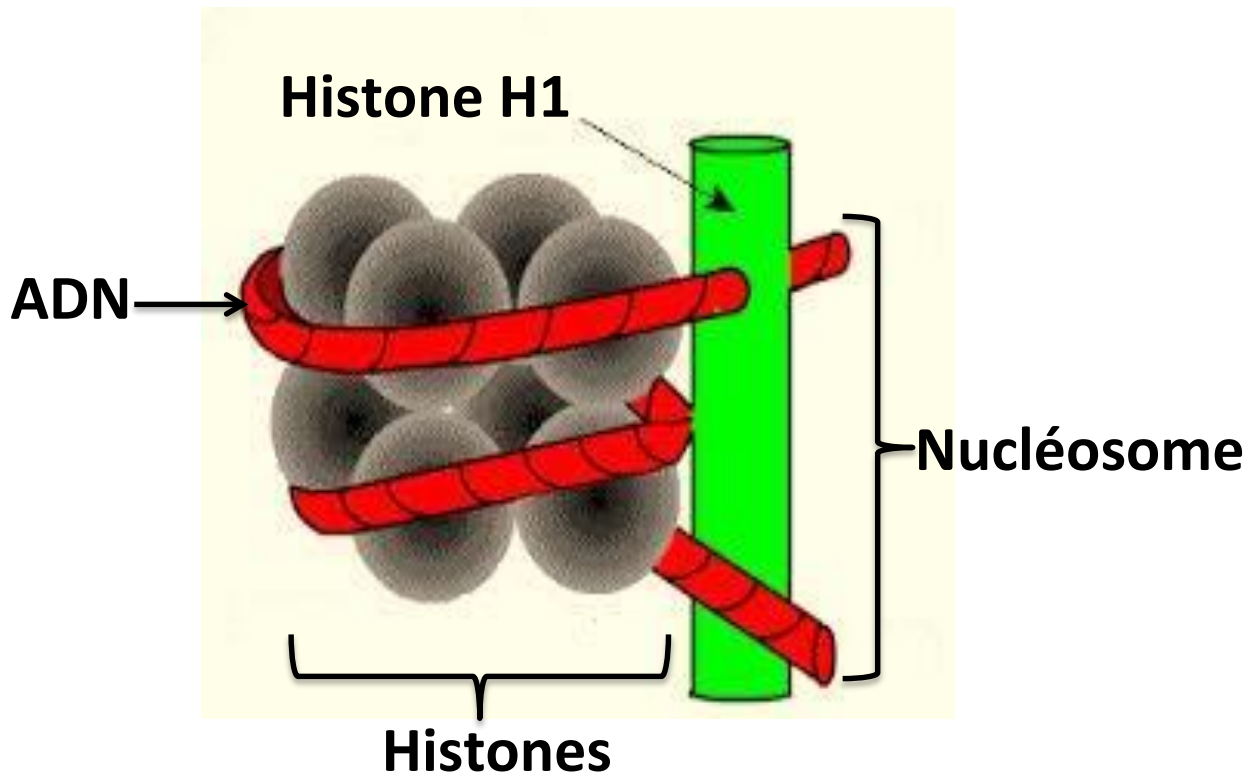


Figure 2 : structure d'un nucléosome [11].

Les protéines non histones :

La plupart de ces protéines ne sont présentés qu'en très faible quantité et sont encore mal connus.

Il est à noter que ces caractéristiques structurales jouent un rôle primordial dans la régulation de l'accès à l'information génétique et donc à la synthèse protéique, cette synthèse comprend deux étapes importantes :

- ✓ **La transcription** et ;
- ✓ **La traduction.**

La transcription correspond à la synthèse de l'ARN messenger(ARNm), le signal de début de transcription est le promoteur qui correspond à une région de l'ADN d'environ 40 paires de nucléotides situés juste avant le début de la région où démarrera la transcription.

Par convention, on appelle + 1 le premier nucléotide transcrit. Le promoteur est donc situé en amont du point + 1.

Chez les eucaryotes, le gène est discontinu, il comprend :

- Des exons qui contiennent l'information et qui s'exprimeront (en étant traduits en protéines), séparés par :
- Des introns (séquences intercalaires), qui sont interposées au milieu de la partie contenant l'information et seront transcrit mais non traduits.

La transcription comprend donc d'abord une transcription intégrale des exons et des introns pour aboutir au préARN messenger qui sera, grâce à des modifications (excision, épissage), transformé en ARNm ne comprenant que des exons. La traduction correspond au décodage de l'ARNm en protéines [6][8][9].

2- Extraction de l'ADN :

L'objectif de l'extraction est la purification des acides nucléiques (AN) dans des conditions optimales de qualité et de quantité. Le principe consiste en l'utilisation de la solubilité différentielle des molécules (AN et contaminants) entre deux phases non miscibles[12].

Le procédé classique est l'extraction par le couple phénol/chloroforme ou l'extraction phénolique. Le phénol est un excellent agent dénaturant des protéines et il permet de séparer efficacement les protéines et les AN. Il est ensuite éliminé par l'extraction au chloroforme (non miscibles à l'eau). La séparation des phases aqueuses et organiques peut se faire par centrifugation. La phase aqueuse contenant les AN.

Il est possible d'utiliser des colonnes de purification de type chromatographique. Les AN peuvent finalement être récupérés sous forme solide à la suite d'une précipitation par l'alcool éthylique ou par l'alcool isopropylique. Ces techniques de précipitations ont pour but de protéger les AN d'une part et d'une autre part, de les resolubiliser à la concentration souhaité, après séchage.

L'extraction des ARN est beaucoup plus délicate en raison de leur extrême sensibilité aux RNAses omniprésentes : il est alors nécessaire d'ajouter à la technique précédente des inhibiteurs des RNAses. La séparation et l'étude analytique des fragments d'acides nucléiques obtenus sont mises en évidence par électrophorèse en gel de polyacrylamide de 3,5 à 15% pour des fragments de 20 à 2 000 pb ou d'agarose, de 0,6 à 1,5 % pour les fragments de 0,2 à 20 kb. L'adjonction de bromure d'éthidium permet l'observation du gel d'agarose sous UV et les marqueurs de masse moléculaires définissent la taille des fragments. Une variante appelée électrophorèse en champ pulsé permet d'analyser des fragments d'ADN supérieurs à 50 kb [6][12].

L'électrophorèse en gel capillaire a été appliquée avec succès à l'analyse des acides nucléiques. La détection des solutés est réalisée par la mesure directe de l'absorbance en UV à une longueur d'onde de 260 nm ou par fluorescence induite par laser (LIF) après marquage des fragments d'ADN double brin à l'aide d'un agent fluorescent intercalant [13].

3- Estimation des quantités d'ADN :

Il est rarement nécessaire d'effectuer un dosage très précis, et dans la pratique, une simple estimation de la concentration est suffisante. Elle s'effectue par spectrophotométrie dans l'UV à 260 nm.

Il est indispensable de mesurer également l'absorption à 280 nm. Cette dernière longueur d'onde permet d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. Le rapport des densités optiques (DO) 260/280 nm doit être voisin de 1,8. S'il y a contamination par les protéines qui absorbent à 280 nm ou par le phénol qui absorbe à 270 nm, le rapport sera nettement <1,8.

Une unité de DO correspond à l'absorption d'une solution d'ADN double brin à la concentration de 50 microgrammes par ml ou à l'absorption d'une solution d'ADN simple brin (ou d'ARN) à la concentration de 25 microgrammes par ml [12].

B. Analyse de l'acide désoxyribonucléique :

L'analyse de l'ADN sert principalement à caractériser :

- Soit des mutations ponctuelles ;
- Soit des anomalies de structure : remaniements (translocations, réarrangements des gènes d'immunoglobulines ou du récepteur des cellules T) ou délétion ;
- Soit des polymorphismes.

1- Hybridation in situ (HIS) :

Elle permet la visualisation directe de la présence, sur une coupe tissulaire ou un chromosome, d'une séquence d'ADN, par hybridation spécifique avec une sonde marquée qui rend visible le duplex sonde/ADN.

Cette technique est avant tout utilisée pour déterminer la présence de l'ADN de certains agents infectieux notamment intracellulaires, même en petit nombre, tels les virus où théoriquement moins de 10 copies par cellule suffisent à faire apparaître un signal. Elle peuvent visualiser aussi les ARN.

On l'utilise aussi pour l'analyse chromosomique, notamment avec des sondes fluorescentes (fluorescent in situ hybridization) FISH qui peuvent permettre de localiser une séquence connue sur tel ou tel chromosome[14].

2- Méthode de SOUTHERN blot:

Quand une solution d'ADN est exposée à un pH ou une température élevée (90 °C), les deux brins complémentaires qui constituent l'ADN se séparent. Ce phénomène, appelé dénaturation, est réversible, et la réassociation peut avoir lieu entre n'importe quel acide nucléique (ARN ou ADN) tant que les séquences sont complémentaires.

L'ADN chromosomique est d'abord digéré par des enzymes de restriction qui coupent à des sites précis (comme EcoRI qui coupe entre le G et le A après avoir reconnu la séquence GAATTC) afin de diminuer la taille des fragments à analyser. Ces fragments sont ensuite séparés selon leur taille par électrophorèse en gel d'agarose. Les fragments d'ADN ainsi séparés sont transférés sur un support solide (nitrocellulose ou nylon) après une étape de dénaturation, (chauffage dans le cas de nitrocellulose ou exposée au rayonnement ultra-violet au cas de nylon).

Une fois transférées, les séquences étudiées sont mises en évidence par hybridation d'une sonde préalablement marquée, radioactivement (phosphore 32) ou non (avec une perte de sensibilité dans ce dernier cas). Après lavage, la membrane est mise au contact d'un film autoradiographique pour faire apparaître le signal de radioactivité (Figure 3).

Cette méthode permet de connaître la structure des gènes. Sa sensibilité est de l'ordre de 5%, c'est-à-dire qu'elle peut détecter parmi la population cellulaire analysée des cellules ayant une modification génotypique présente dans au moins une cellule sur 20. Cependant, elle ne permet pas de reconnaître

les mutations ponctuelles, à l'exception des mutations affectant le site reconnu par l'enzyme de restriction nécessaire à la digestion de l'ADN[2][6][14].

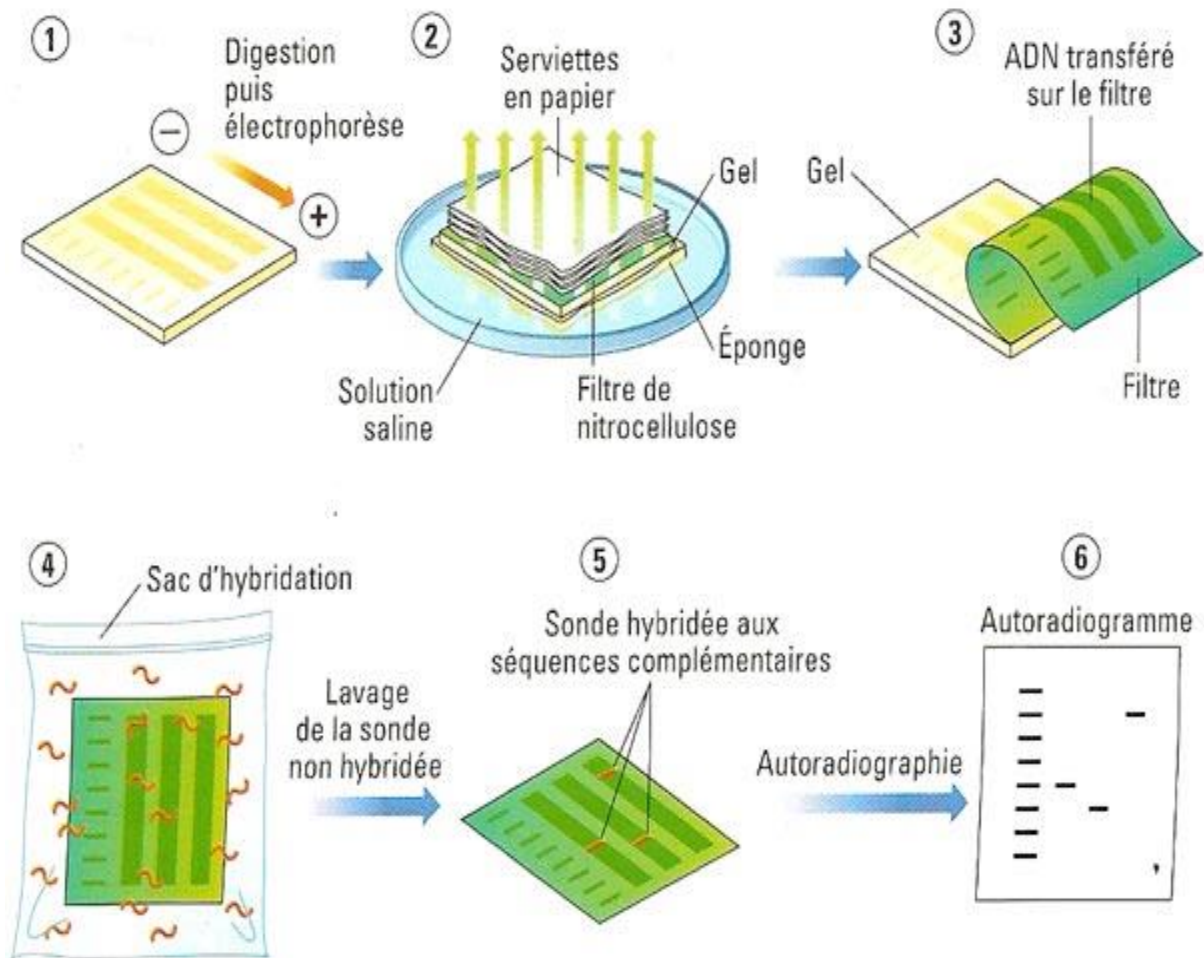


Figure 3: Méthode de SOUTHERN blot [15].

3- Réaction de polymérisation en chaîne ou polymerase chain réaction (PCR) :

Polymerase chain reaction ou PCR est la technique d'amplification enzymatique la plus utilisée, elle est fondée sur l'amplification de fragments d'ADN délimités par deux courtes séquences reconnues par deux oligonucléotides, dites amorces, grâce à une ADN polymérase résistante à haute température (95°C).

Elle permet d'augmenter le nombre de copies d'un segment ADN. Le fragment d'ADN résultant de ce qui peut être assimilé à un clonage in vitro peut alors être détecté par simple fluorescence (au bromure d'éthidium) après électrophorèse [16].

3-1-Principe de la méthode :

La PCR est basée sur le fonctionnement cyclique d'une ADN polymérase thermorésistante. Des millions de copies d'un même segment d'ADN sont synthétisés au cours de 25 à 40 cycles (figure 4), chaque cycle étant caractérisé par la succession de trois étapes :

- Etape de dénaturation thermique: Durant cette étape de 30 à 60 secondes généralement, le milieu réactionnel est porté à une température élevée, avoisinant 95°C, les liaisons hydrogènes reliant les deux brins d'ADN sont alors rompues par la chaleur. Cette température est supérieure à la température de dénaturation (T_m)

de l'ADN qui passe alors sous forme simple brin. Chaque brin servira de matrice.

- Etape d'hybridation des amorces (également appelée annealing) : Les amorces délimitant la séquence d'ADN à amplifier et chacune complémentaire d'un des deux brins, sont ajoutées au milieu réactionnel. Le milieu est amené pendant environ 30 secondes à une température légèrement inférieure au T_m des amorces. Cette température d'hybridation est fonction de la séquence des amorces. Elle est le plus souvent égale à $[T_m - 5^\circ\text{C}]$, ce qui est à la fois suffisamment proche du T_m pour éviter les appariements non spécifiques et suffisamment éloigné pour assurer une bonne hybridation sans risque de fusion prématurée.
- Etape d'élongation : à partir des extrémités 3'OH libres des amorces par polymérisation enzymatique de précurseurs désoxyribonucléotidiques (dNTP).

La première ADN polymérase thermorésistante utilisée (Taq ADN polymérase) a été isolée d'une bactérie thermophile, *thermus aquaticus*. Cette enzyme possède une activité polymérase dépendante de la température maximale à 75-85°C. la Taq ADN polymérase possède une faible activité 5'-3' exonucléasique, mais pas d'activité 3'-5' exonucléasique in vitro. Des ADN polymérase thermorésistantes sont actuellement clonées. La température d'appariement(T_a) matrice / amorce et les molarités en nucléotides dNTP et le magnésium en concentration précises sous forme de MgCl_2 influent sur la fidélité de l'enzyme [16].

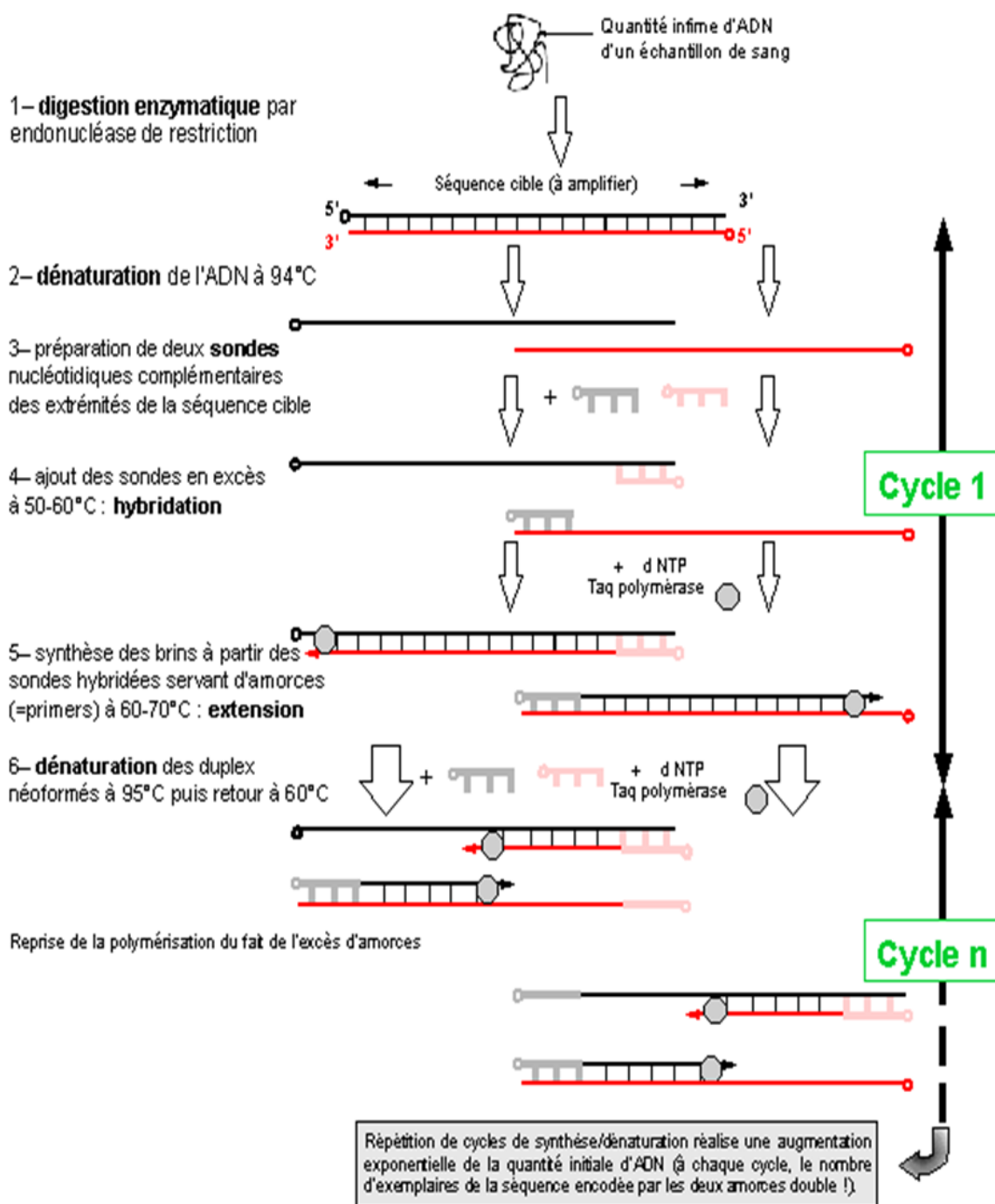


Figure 4: Principe de la PCR[15].

L'analyse des produits de l'amplification par PCR peut se faire de différentes façons :

- Clivage du produit de PCR par une enzyme de restriction (si la mutation induit la modification d'un site de restriction) puis analyse par électrophorèse sur gel coloré au bromure d'éthidium (BET) : analyse de restriction ;
- Dépôt des produits de PCR sur membrane (dot au slot-blot) et hybridation avec des oligonucléotides internes marqués (oligosondes) spécifiques de l'allèle normal et de l'allèle muté : mise en évidence de mutations ponctuelles ;
- Insertion du produit de PCR dans un vecteur et séquençage ;
- Analyse électrophorétique des produits de PCR (techniques DGGE et SSCP) : ces techniques sont particulièrement utiles pour mettre en évidence des mutations ponctuelles au niveau d'un gène.

Les produits PCR seront différents en fonction de la présence d'une séquence normale, ou d'une séquence mutée (homozygote, hétérozygote ou composite)[6][8][12][17].

Actuellement, l'utilisation d'amorces fluorescentes a permis d'améliorer la résolution de l'analyse du produit de PCR. L'une des amorces est rendue fluorescente par la fixation, à son extrémité 5', d'une molécule capable d'émettre une fluorescence de longueur d'onde déterminée après une excitation laser. Par cette approche, le produit de PCR obtenu après

amplification est détectable par la fluorescence émise lors du passage devant la fenêtre de lecture au cours d'une migration capillaire électrophorétique sur un analyseur de fragments. Ceci permet de lui attribuer une taille précise, et améliore la sensibilité de détection du signal.

3-2- PCR-RFLP polymorphisme de longueur des fragments de restrictions :

L'approche PCR-RFLP conduit à comparer la longueur des fragments de restriction d'une région choisie du génome et préalablement amplifiée par PCR, afin de déterminer le polymorphisme. Cette région est utilisée comme substrat pour les enzymes de restriction [18].

Les enzymes de restriction sont des endonucléases qui reconnaissent spécifiquement une séquence courte (4 à 8 bases) et coupent la chaîne d'ADN chaque fois qu'elles reconnaissent cette séquence élémentaire. L'ADN se retrouve ainsi fragmenté en morceaux de différentes longueurs séparés en fonction de leur taille par électrophorèse sur un support physique. Un fragment va migrer d'autant plus loin qu'il est court. Un polymorphisme de la longueur des fragments de restriction est ainsi mis en évidence. Les profils observés permettent l'analyse de la diversité des souches [18][19].

Cette méthode permet d'éviter l'étape d'hybridation et l'utilisation de sonde radioactive.

3-3- Avantages de la PCR :

- ❖ Sensibilité : La PCR apporte une énorme sensibilité car capable de générer une très grande quantité d'acide nucléique à partir de quelques copies de la séquence recherchée, tandis que le minimum nécessaire pour la méthode de SOUTHERN blot est de 5 µg, soit environ 750 000 cellules.
- ❖ Rapidité : Aussi elle permet un important gain de temps par rapport aux autres techniques comme la culture (élimination des temps de cultures et d'incubation), et méthode de SOUTHERN blot (1 jour contre une semaine) [6][8][12][17]

3-4-Les limites de la PCR :

La PCR reste une technique parfois délicate à réaliser et à interpréter du faite :

- ❖ des risques d'inter contamination lors des prélèvements.
- ❖ de la possible dégradation des acides nucléiques en particulier de l'ARN ainsi que de la présence d'inhibiteurs de PCR lors de certains prélèvements.
- ❖ de la contamination facile du milieu réactionnel lors de l'analyse au laboratoire.
- ❖ La contamination par aérosols de produits PCR.

- ❖ Des faux positifs dus à la sensibilité extrême de la technique, d'où la nécessité de travailler dans des conditions très rigoureuses)[8][12][14][17].

3-5- les variantes de la technique :

a- PCR « Multiplex » :

PCR « Multiplex » : consiste à amplifier, dans un tube unique, avec plusieurs couples d'amorces spécifiques et différents, une partie du gène à étudier (il s'agit souvent de gènes avec de nombreux exons), les produits d'amplifications doivent avoir chacun une taille différente de manière à pouvoir les différencier lors de l'analyse électrophorétique.

b-PCR nichée (ou nested PCR) :

Pour obtenir une plus grande sensibilité lors de la PCR, il est possible d'effectuer deux PCR successives.

La « nested PCR » permet une meilleure spécificité: le produit issu de la première PCR est de nouveau amplifié au cours d'une deuxième PCR (Figure :5).

Dans cette technique, deux couples d'amorces différents sont successivement utilisés:

- ✓ un couple d'amorces externes : Ce couple d'amorces permet tout d'abord d'obtenir un premier fragment d'ADN amplifié, selon une PCR classique. Les fragments d'ADN obtenus servent alors de matrice pour une seconde PCR.

- ✓ un couple d'amorces internes : Ce couple d'amorces délimite borne une région située à l'intérieur (ou nichée) du fragment nucléotidique obtenu avec le 1er couple d'amorces, et donnera des fragments de taille inférieure à ceux obtenus avec la 1ère.

Cette méthode est très sensible : après une première PCR de 30 cycles, on obtient théoriquement 2^{30} cibles amplifiées (pour un rendement de 100%). La deuxième PCR de 30 cycles permettra d'obtenir $[2^{30}]^{30}$ soit $[2^{60}]$ cibles en théorie. Deux couples d'amorces étant utilisés, la spécificité de la réaction est accrue.

Cependant, les résultats de cette PCR sont à interpréter avec prudence dans la mesure où cette méthode associe deux PCR classiques successives et permet certes d'augmenter la sensibilité et la spécificité; cependant elle est difficilement utilisable pour un usage de routine sur des grandes séries car elle nécessite beaucoup de temps de manipulation. Cette technique reste très exposée aux risques de contaminations (du fait des deux PCR successives).

c-PCR quantitative :

La PCR quantitative permet d'obtenir des résultats quantitatifs sur la quantité d'ADN initiale[8][12][17].

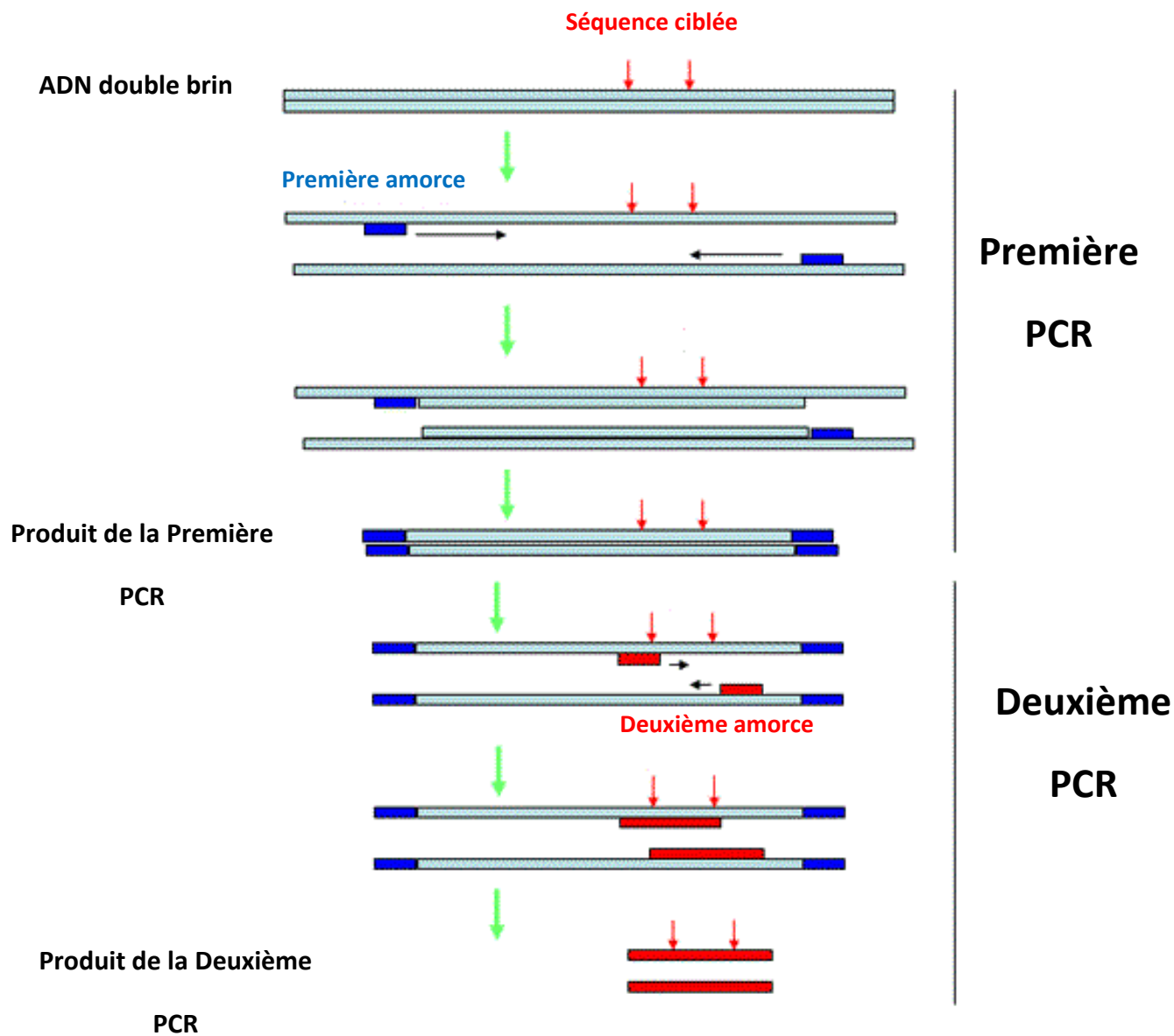


Figure 5: Principe de la PCR Nichée (ou Nested PCR)[20].

4- Analyse des mutations :

Le terme mutation désigne tout changement du matériel héréditaire survenant soit dans la lignée germinale (mutations germinales), soit dans les cellules somatiques (mutations somatiques).

Seules les mutations germinales peuvent être transmises à la descendance et sont à l'origine des maladies héréditaires.

On distingue des mutations par substitutions, délétions, insertions et par remaniements géniques.

Pour étudier les mutations pouvant affecter le fonctionnement des gènes, plusieurs méthodes peuvent être utilisées :

- l'établissement de la séquence des nucléotides constituant ce gène, méthode relativement lourde mais fiable (séquençage direct) ;
- deux autres méthodes de séquençage indirect de recherche de mutations ponctuelles, le polymorphisme conformationnel des structures simple brin et l'électrophorèse en gel de gradient dénaturant[6][7][8].

4-1-le séquençage direct : méthode de SANGER :

La méthode décrite par SANGER est fondée sur l'arrêt de l'élongation lors de la réplication par une onde ADN polymérase. Cet arrêt est réalisé par la présence de didésoxynucléotides(ddNTP) qui, à la différence des désoxynucléotides (dNTP où N signifie une de quatre bases) ; constituant l'ADN, ne permettent par l'ajout de la base suivante lors de l'élongation car le radical hydroxyl nécessaire a été remplacé par un simple atome d'hydrogène.

Les bases didésoxy agissent, donc, comme des leurres vis-à-vis de la polymérase. Quatre réactions pour chaque séquence étudiée sont conduite en parallèle, chacune utilisant l'une des 4 bases A, C, G ou T sous forme de didésoxytriphosphate en très faible proportion par rapport aux dNTP normaux nécessaires à la réaction d'élongation.

La synthèse d'ADN s'effectuant, pour chaque brin en présence, dans le sens 5' vers 3' : elle s'arrêtera dès qu'un didésoxy sera incorporé. Il y aura, donc, autant de fragments avortés que de fois où la base didésoxy correspondante sera présente dans la séquence synthétisée. Les fragments obtenus de façon aléatoire ont de tailles variables qui autorisent leur séparation par électrophorèse[21].

En modifiant le ddNTP incorporé (par exemple ddATP au lieu de dATP) et en faisant migrer les quatre réactions d'élongation sur un gel de polyacrylamide permettant la résolution à une base de près, on peut définir précisément l'enchaînement des nucléotides dans le gène étudié[2][6][21].

4-2- séquençage indirect :

❖ **polymorphisme de conformation des ADN simple brin (PCSB) ou single stranded chain polymorphism (SSCP) :**

Cette méthode met à profit les différences de réappariement des molécules d'ADN simple brin sur elles-mêmes, aboutissant à une structure en épingle à cheveu, cette conformation tridimensionnelle variant en fonction de la composition en nucléotides de l'ADN.

En effet, lorsqu'un tel fragment d'ADN double brin est dénaturé par chauffage à 95°C, puis rapidement refroidi, les molécules simple brin n'ont pas le temps de se réassocier entre elles mais forment une structure secondaire stable par réassociations intramoléculaires au niveau de zones de séquences complémentaires. Les différences de séquences peuvent entraîner des différences de conformation qui sont décelées par une migration en conditions non dénaturantes dans un gel d'acrylamide.

Le procédé SSCP est potentiellement très intéressant car il ne nécessite pas de digestion. Il est, cependant encore, assez peu utilisé en raison, surtout, de certaines difficultés dans la maîtrise des conditions de l'électrophorèse.

Il existe d'autres techniques similaires d'analyse de la conformation des fragments d'amplification. Celles-ci utilisent des conditions d'électrophorèse dénaturantes. Il s'agit des techniques de l'électrophorèse en gel de gradient dénaturant[18].

La différence de migration entre ADN muté et ADN normal est souvent très faible, la mutation pouvant soit freiner, soit accélérer la migration. Il est donc

nécessaire de traiter l'ADN normal dans des conditions les plus proches possibles de l'ADN muté pour ne pas générer des résultats faussement positifs. La 2^{ème} limite de la méthode réside dans l'utilisation de matériel radioactif[12][22][23].

❖ ***l'électrophorèse en gel de gradient dénaturant ou denaturing gel gradient electrophoresis (DGGE) :***

Une des méthodes développées pour rechercher des mutations dans des régions étendus de l'ADN fut l'électrophorèse en gel de gradient dénaturant. Cette technique est fondée sur le fait que l'ADN simple brin migre beaucoup moins vite que l'ADN double brin. Un ADN double brin contenant un défaut d'appariement (hétéroduplex réalisé in vitro entre un ADN simple brin muté et un ADN simple brin témoin) sera dénaturé plus rapidement qu'un ADN double brin parfaitement apparié. L'ADN mal apparié se dissocie plus rapidement, d'où un arrêt de sa migration plus précoce par rapport à l'ADN double brin témoin. Une différence d'une seule base entre l'ADN muté et l'ADN témoin est suffisante pour provoquer des profils de migration différents.

Cette technique contrairement à la SSCP, n'utilise pas de produits radioactifs. Son principale inconvénient réside dans la lourdeur de sa mise au point, elle réclame en effet une analyse informatique poussée qui permet de déterminer exactement les conditions expérimentales [12][22][23].

C. Analyse de l'acide ribonucléique :

L'étude des produits de transcription permet de la détection des ARN messagers normaux, ainsi que des ARN messagers de fusion résultent de translocations chromosomiques.

L'étude de ces translocations est pratiquement impossible au niveau de l'ADN, car leurs points de cassure sont éparpillés sur les introns. Lors de l'épissage des ARN messagers après transcription de l'ADN, les exons sont reboutés les uns aux autres, générant ainsi des ARN et des protéines de fusion uniformes. La grande sensibilité de l'ARN vis-à-vis des ribonucléases, enzymes dégradant l'ARN et non l'ADN, présentes de manière ubiquitaire et elles-mêmes résistantes à la dégradation, implique un soin particulier lors de sa manipulation.

1- la technique de NORTHERN-blot :

Le NORTHERN-blot est une technique employée en biologie moléculaire pour étudier l'expression de gènes (produits de transcription). Elle dérive de SOUTHERN-blot, sauf qu'au lieu d'étudier de l'ADN, on étudie de l'ARN. L'ARN va être analysé sur électrophorèse et détecté par une sonde. Une différence du procédé par rapport au SHOUTERN- blot est l'utilisation de formaldéhyde dans le gel d'électrophorèse comme dénaturant, parce que le traitement d'hydroxyde de sodium utilisé en SHOUTERN dégraderait l'ARN. Comme dans le SOUTHERN-blot, la sonde d'hybridation peut être faite à partir d'ADN ou d'ARN.

Cette méthode permet une quantification de l'ARN messenger d'une manière plus fiable que la RT-PCR (PCR après transcription inverse), mais avec

une sensibilité moindre et nécessite une trop grande quantité d'ARN pour être utilisée en routine[6].

2- la RT-PCR :

3-1-principe :

La PCR repose sur des cycles successifs de réplication d'une séquence spécifique d'ADN matrice par une ADN polymérase. Les ADN polymérases thermostables utilisées pour la PCR sont ADN dépendantes. Lorsqu'on recherche à amplifier des ARN messagers, il est impératif d'introduire une étape préalable de transcription inverse (reverse transcription ou RT). On parle alors de la RT-PCR. L'étape de RT va consister à synthétiser le brin complémentaire (ADN) des ARN à partir d'une amorce oligonucléotidique, grâce à une enzyme à activité ADN polymérase ARN dépendante, la transcriptase inverse (reverse transcriptase ou RTase)[24].

3-2-Réalisation pratique :

La RT-PCR se déroule en deux phases : Une première phase correspond à la copie d'ARN messager en ADN complémentaire (ADN) et une seconde phase correspond à une réaction PCR classique sur l'ADN synthétisé. Dans la première phase, l'ARN messager à étudier est repéré en utilisant une sonde oligonucléotidique spécifique (amorce 1 qui s'hybride à l'extrémité 3' du seul ARNm auquel on s'intéresse), puis la transcriptase inverse (ou rétrotranscriptase) permet la synthèse du brin complémentaire (sous une forme

d'ADN simple brin), une seconde amorce oligonucléotidique spécifique (amorce 2) permettra la synthèse du second brin par extension.

L'ADN complémentaire synthétisé servira ensuite de matrice pour une réaction PCR classique (figure : 6)[24].

3-3- les limites de la technique :

Si la technique de la RT-PCR ne présente pas de difficulté technique particulière, elle est, cependant, rendue délicate par le caractère extrêmement labile de l'ARN, ainsi que la contamination possible des échantillons d'ARN par de l'ADN, ce qui impose de prendre un certain nombre de précautions dans la réalisation de l'analyse, surtout lorsque l'on souhaite l'utiliser pour le diagnostic clinique[24].

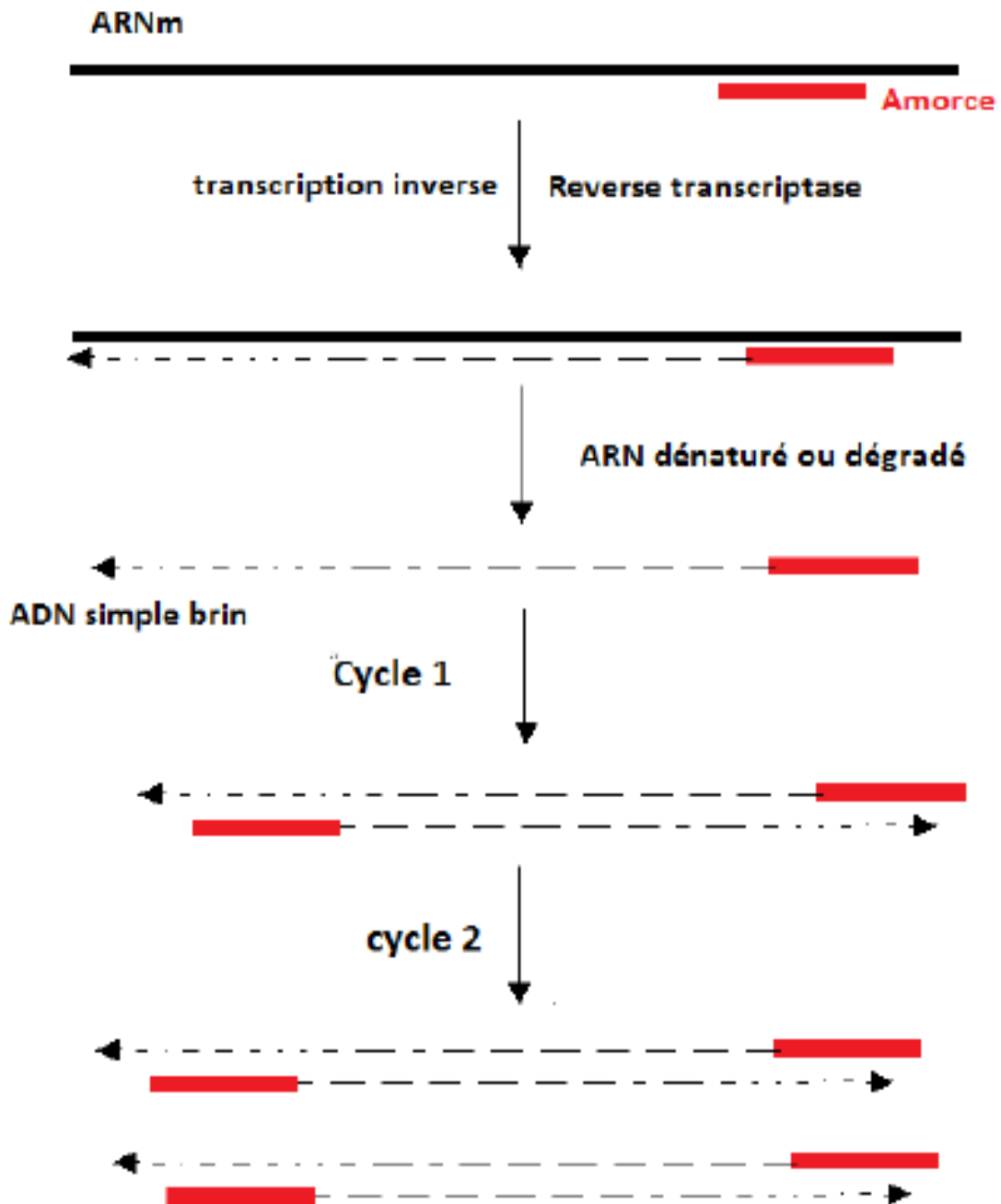


Figure 6: Technique RT-PCR[24].

D. les nouvelles technologies :

1- La PCR en temps réel :

Les techniques classiques d'amplification génique (PCR) sont utilisées en routine depuis plus d'une dizaine d'années par les laboratoires de biologie pour identifier des micro-organismes pathogènes. Ces techniques dites "classiques" nécessitent, comme nous l'avons vu précédemment plusieurs étapes expérimentales, parfois complexes et difficiles à mettre en œuvre dans des laboratoires de routine (PCR puis détection du produit amplifié).

De plus, en raison de la multiplicité des procédures, ces tests requièrent les mêmes délais, voir des délais supérieurs à ceux des méthodes de diagnostic conventionnels, auxquels s'ajoutent les risques de contamination. Cette dernière décennie, des automates réalisant dans un seul mélange réactionnel ("système fermé") à la fois la réaction de PCR et la détection du produit amplifié (amplicon) ont été développés. Ces appareils sont à la fois des thermocycleurs extrêmement performants (vitesse de thermocycling très rapide) et des fluorimètres qui détectent spécifiquement en temps réel l'amplicon formé.

1-1-Principes :

La technique de PCR en temps réel est directement inspirée de la PCR classique.

Les cycles de PCR successifs induisent une augmentation exponentielle du produit d'amplification, et par conséquent de la fluorescence émise. Pour la détection des amplicons, cette PCR utilise soit l'agent intercalant SYBR®Green

(figure : 7), soit elle fait appel à des amorces spécifiques du gène à amplifier associées à un système de sondes fluorescentes qui se fixent spécifiquement sur le brin amplifié. On distingue trois grands types de sondes: les sondes d'hydrolyse TaqMan®, les sondes d'hybridation FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfert) et les molecular beacons (balises moléculaires).

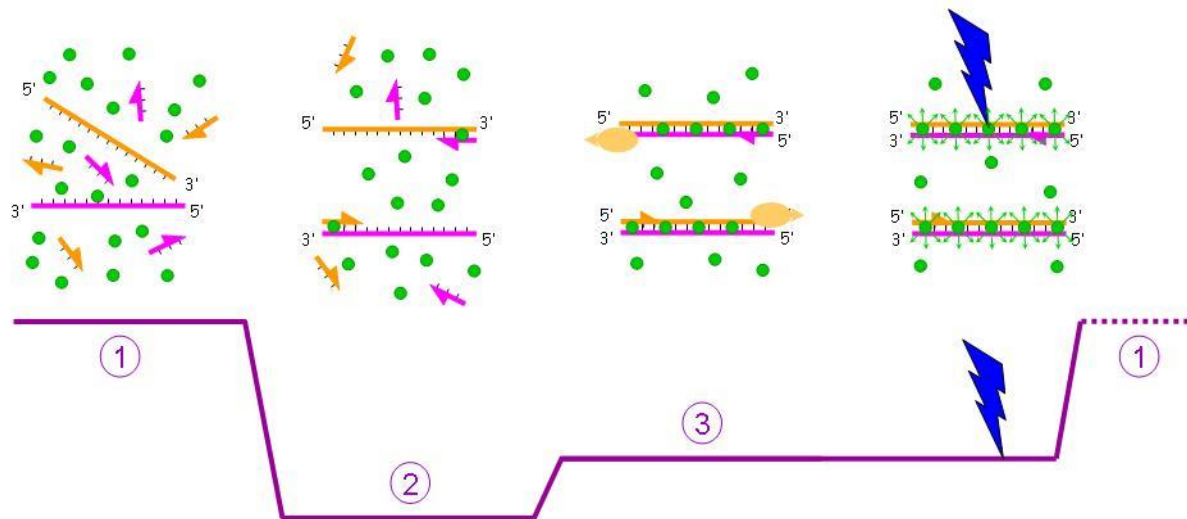


Figure 7 : Cycle PCR utilisant CYBER GREEN[27]

(1)Dénaturation; (2) Hybridation ; (3) Elongation.

Le temps de détection du signal est directement proportionnel à la quantité d'ADN cible présente dans le mélange réactionnel. Durant les premiers cycles, la fluorescence reste à son niveau de base. Le " Threshold cycle" (Ct) correspond au cycle à partir duquel la courbe de fluorescence croise la droite correspondant au seuil de détection. Il est inversement proportionnel à la quantité d'ADN cible présente dans l'échantillon biologique avant la réaction.

Dès lors, un Ct précoce correspond à une réaction très positive et une concentration initiale d'ADN élevée, un Ct tardif reflète une quantité d'ADN moindre, en fin un Ct égal au nombre de cycles réalisés correspond à une réaction négative, dans ce cas la fluorescence mesurée au cours de la réaction ne dépasse pas le seuil de détection[25][26]. (Figure : 8).

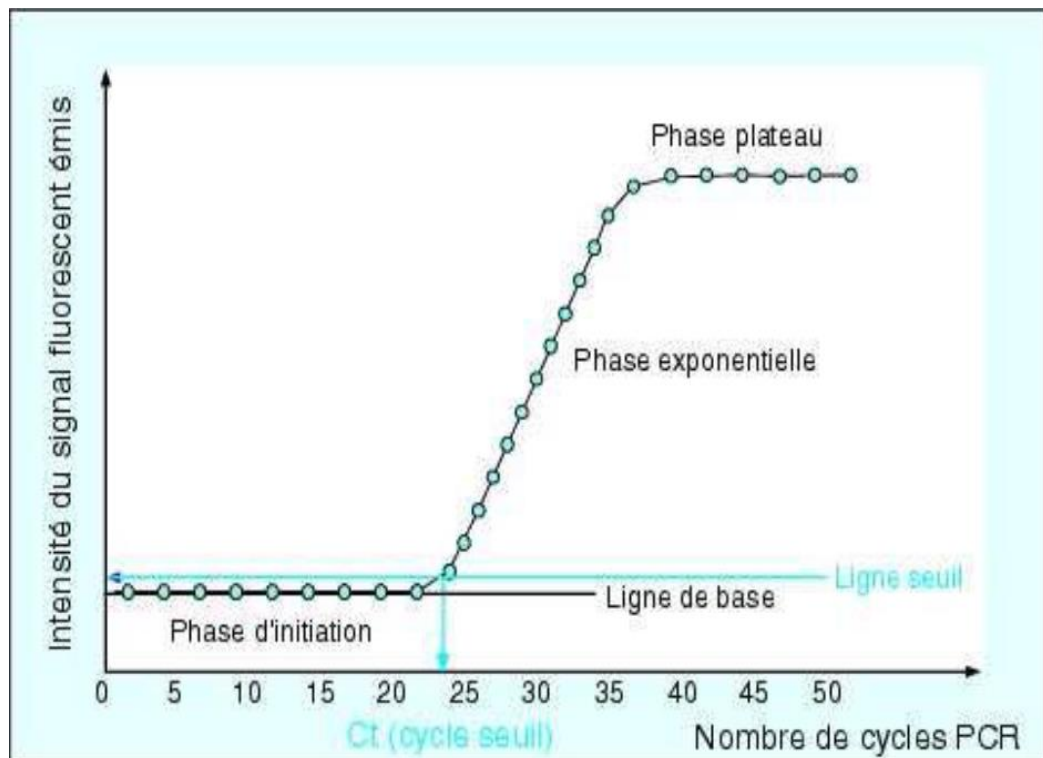


Figure 8 : le suivi en temps réel d'une réaction PCR[25].

La cinétique de la réaction de PCR est L'évolution de cette amplification peut être représentée par une courbe dont l'allure est celle d'une sigmoïde.

Cette courbe peut être divisée en trois phases :

- ✓ Phase d'initiation;

- ✓ phase exponentielle : cette deuxième phase correspondant à une amplification exponentielle qui est modélisable.
- ✓ phase de plateau : elle correspond à un ralentissement de l'amplification qui peut être dû à l'épuisement des différents réactifs de la PCR comme les amorces.

Plusieurs raisons expliquent l'existence de cet "effet plateau" :

- L'épuisement des substrats (amorces, désoxyribonucléotides [dNTPs]).
- La dégradation des désoxyribonucléotides [dNTPs] consécutive à la température élevée.
- L'inactivation thermique progressive de l'ADN polymérase.
- La concentration limitant de l'enzyme et/ou l'inhibition progressive de l'enzyme par les pyrophosphates générés au cours de la PCR.
- La réhybridation des produits formés gênant l'accès des différents réactifs aux séquences cibles[25].

En conclusion, cette technologie apporte, au-delà de son aspect quantitatif, une définition de la qualité du matériel étudié, grâce à l'utilisation d'un gène domestique, très nettement supérieure aux approches qualitatives. Sa facilité d'utilisation et les avantages qu'elle apporte en font certainement une approche dont les applications seront de plus en plus larges.

1-2-Intérêts de la PCR en temps réel :

- ❖ Pour la PCR classique, 2 heures sont nécessaires pour réaliser 30 à 40 cycles alors que 20 à 30 minutes sont nécessaires pour le même nombre de cycles pour la plupart des appareils de PCR en temps réel.
- ❖ Pour les techniques classiques, la détection du produit amplifié se fait, selon différentes méthodes évoquées plus haut qui sont fastidieuses et nécessitent l'utilisation éventuelle de produit cancérigène (BET). De plus, elles favorisent les contaminations avec l'ouverture nécessaire des tubes pour l'électrophorèse et imposent des locaux séparés pour les étapes d'amplification et de post-amplification. A l'inverse, les techniques de PCR en temps réel, permettent une détection spécifique et immédiate de l'amplicon au cours de la réaction de PCR.
- ❖ la PCR en temps réel présente l'avantage de pouvoir quantifier la cible détectée dans l'échantillon biologique[25].

1-3-Applications :

La PCR en temps réel est utilisée pour de nombreuses applications telles l'analyse d'expression de gènes, de mutations, de génotypage, de détection et quantification rapide d'agents pathogènes, de quantification d'ADN et d'ARN, d'essais d'expression et de distribution pour la thérapie génique.

Elle est aujourd'hui devenue un outil inestimable pour de nombreux scientifiques. En biologie médicale ; les applications sont déjà très nombreuses et couvrent des domaines très diversifiés sont les plus importants se situent en dermatologie[25][26].

2- Les puces à ADN :

La technique des puces à ADN est simplement fondée sur une amplification d'acides nucléiques suivie d'une hybridation. Elle ne comporte rien de nouveau, si ce n'est une miniaturisation du système. L'idée est d'analyser non pas une séquence, mais des milliers.

À l'origine, les supports utilisés étaient des lames de microscope sur lesquelles étaient déposés des milliers de sondes afin d'analyser autant de régions dans un gène. Dans les laboratoires, leur fabrication était très artisanale et limitée techniquement : d'une part, la fabrication des sondes était longue et fastidieuse, d'autre part, il fallait prélever seulement quelques nanolitres de liquide afin d'effectuer les dépôts sur la lame. Cette opération délicate entraînait le blocage des engins de l'époque.

Grâce au transfert de la technologie de l'industrie électronique, les lames de verre ont été remplacées par des supports de silicium ou de plastique sur lesquels les oligonucléotides sont fabriqués les uns après les autres par synthèse chimique. Les premières puces de la société Affymetrix, pionnier et leader actuel en la matière, présentaient une capacité d'analyse de quelques centaines de sondes. Les plus récentes permettent aujourd'hui d'analyser jusqu'à 2 millions de loci dans le génome.

Une des applications principales des puces est la cartographie de tumeurs. Cela consiste à comparer l'expression de 200 à 300 gènes dans un tissu tumoral et dans un tissu sain. Tous les résultats sont obtenus en même temps, ce qui évite au biologiste d'effectuer des centaines de PCR quantitatives[28][29][32].

2-1-Des puces commerciales prêtes à l'emploi :

Des versions commerciales de puces à ADN sont arrivées sur le marché. Roche a ainsi développé en partenariat avec Affymetrix une puce pour analyser les variations de séquences de deux cytochromes P 450 : 2C19 et 2D6.

Si le coût de cette puce semble élevé, la limite la plus importante en termes de coût concerne le système de lecture. Après la phase d'hybridation et d'éluion des puces en station, celles-ci sont ensuite placées dans un scanner à haute résolution afin de lire les résultats. Fondés sur un système de microscopie confocale, ces scanners sont très onéreux[30].

2-2-Des puces “à façon” :

Suite au développement des puces par Affymetrix, d'autres sociétés se sont lancées sur ce marché. Nanogen a développé NanoChip[®], un système innovant de puce “à façon” : la puce est vendue brute et le client choisit ce qu'il veut fixer à sa surface.

Il peut y fixer des sondes – dans ce cas-là, il éluera avec l'ADN des patients – ou bien il peut fixer l'ADN des patients et il éluera avec les sondes. Le système présente une originalité : l'hybridation sur la puce est facilitée par un courant électrique.

L'ADN étant chargé, il est attiré à l'endroit voulu par le courant. Le rendement d'hybridation est ainsi bien supérieur, même en cas de faible concentration. Dans un deuxième temps, une fois l'hybridation effectuée, au lieu de réaliser des lavages à différentes stringences, il suffit d'inverser le courant électrique pour repousser les acides nucléiques s'étant fixés de façon non spécifique[30][31].

2-3-Les systèmes intégrés :

Bien que les puces fassent gagner du temps au niveau de l'étape d'analyse, le système reste complexe avec des étapes préanalytiques parfois très longues. Dans l'optique de raccourcir le process et d'obtenir des systèmes plus intégrés, sont apparus les laboratoires sur les puces (lab on a chip).

Grâce à des microcanaux et des microvalves gravés dans le silicium, ces systèmes miniaturisés permettent non seulement d'analyser des acides nucléiques, mais aussi de les séparer en réalisant des électrophorèses. Certains prototypes vont bien plus loin.

En 2003, le laboratoire d'électronique des technologies de l'information (Leti) du CEA à Grenoble a développé un système totalement intégré : dans des microcanaux tapissés de transistors, un gradient électrique fait varier la température.

Ainsi, au fur et à mesure que l'échantillon avance sur la puce, il se produit une PCR grâce aux variations de température. Une fois la PCR terminée, le produit peut être génotypé ou séquencé sur la puce[30].

3- Le séquençage haut débit :

Si les puces à ADN continuent à susciter beaucoup d'espoir, elles pourraient bien avoir du mal à concurrencer les nouvelles techniques de séquençage haut débit. Le premier séquenceur haut débit a été lancé en 2004 par la société 454 Life Sciences, depuis rachetée par Roche. Il permettait de séquencer 20 millions de paires de bases par run.

Cette technologie a vu le jour alors que le projet de séquençage du génome humain était déjà arrivé à son terme. Ce dernier a en effet été mené avec des techniques de séquençage datant des années 1980. « En 1998, Craig Venter annonçait qu'il faisait l'acquisition de 230 appareils de séquençage à 96 capillaires et qu'il se donnait trois ans pour finir le séquençage du génome humain », précisait Éric Baud, chef de marché séquençage chez Roche Diagnostics. « De notre côté, avec notre séquenceur GS 20 FLX System, nous avons séquencé le génome de Watson, le codécouvreur de la structure de l'ADN, en deux mois et avec un seul appareil. Il s'agissait du premier séquençage de génome unique d'un individu.»

La troisième génération de séquenceur commercialisée actuellement par Roche effectue un million de lectures de fragments de 500 bases en moyenne, ce qui lui donne une capacité d'environ 500 Mb de données brutes par run, à raison de deux run par jour. La couverture réelle est toutefois moins importante car l'appareil relit plusieurs fois le même fragment afin d'augmenter l'exactitude de la séquence obtenue.

En fonction du projet de séquençage, Roche conseille de choisir un niveau de couverture de 15 à 20X. Avec un niveau de couverture de 20X, la capacité réelle de l'appareil est de 33 Mb. Pour le séquençage du génome de Watson, le niveau de couverture utilisé était de 7,4X[30][31].

❖ Le système fondé sur le pyroséquençage :

Pour se servir de ce séquenceur, la première étape est l'obtention d'une banque d'ADN simple brin. Il est possible de travailler sur de l'ADN génomique global (en shotgun), sur de l'ADN fragmenté – ce qui peut arriver lorsque l'on étudie de l'ADN ancien –, ou sur des produits PCR. L'ADN est fragmenté en séquences de 500 bases grâce à une ligase. Des adaptateurs contenant des amorces PCR et des étiquettes (tags) sont ajoutés au milieu et vont venir se fixer sur les fragments à séquencer. L'étape suivante est une étape d'amplification dite de PCR en émulsion (emPCR). L'ADN est mélangé avec des billes complémentaires aux adaptateurs, dans un ratio tel que l'on aura une bille pour un brin d'ADN. Les réactifs nécessaires à la PCR sont ajoutés au milieu et les tubes sont agités afin de créer une émulsion. On se trouve ainsi en présence de petites gouttelettes contenant un brin d'ADN et des réactifs de PCR[30].

Ces gouttelettes vont agir comme des microréacteurs lors de l'amplification. L'émulsion est ensuite cassée, les billes sont récupérées et l'étape suivante est la réaction de séquençage. Le mélange est déposé dans une " PicoTiterPlate ", une plaque à 3,4 millions de puits. Le diamètre de chaque puits étant de 30 microns, celui-ci ne peut accueillir qu'une seule bille (25 microns de diamètre) à la fois.

La plaque est placée dans l'appareil et la réaction de séquence est lancée. Il s'agit d'une réaction de pyroséquençage : la lumière émise est mesurée au fur et à mesure de la synthèse. Les données brutes (40 gigaoctets) peuvent ensuite être analysées grâce à des logiciels informatiques. Roche propose différents

logiciels en fonction du projet : séquençage de novo, reséquençage ou analyse de produits PCR[30][33].

❖ Les applications du séquençage haut débit

Lorsque Roche a sorti son premier appareil, une des cibles majeures était l'infectiologie : avec une capacité de 20 Mb, il était possible de séquencer le génome de n'importe quelle bactérie d'un seul coup. L'appareil trouvait ainsi tout son intérêt pour analyser l'épidémiologie bactérienne, suivre des infections nosocomiales ou pour séquencer le VIH. Cependant, au quotidien, les capacités des appareils actuels dépassent largement les besoins des biologistes. Afin de rentabiliser les potentialités de l'appareil, un système de séparation permet de diviser la plaque en seize régions différentes et donc d'analyser simultanément plusieurs échantillons. En outre, l'intégration en série de différentes étiquettes dans les adaptateurs permet au final de séquencer plus de 2 000 échantillons sur le même run.

Une autre technique intitulée "paired and read sequencing", au cours de laquelle des fragments de plusieurs kilobases sont séquencés, permet de mettre en évidence des délétions ou des duplications chromosomiques.

Un avantage notable de la technique de séquençage haut débit est la capacité d'analyse de variations très faiblement représentées dans l'échantillon.

Une approche complémentaire mise en avant par la société Roche est la capture de séquence : il s'agit d'une stratégie combinant la capture sur puce et le séquençage. Cette stratégie est mise en œuvre avec les puces de la société

islandaise Nimblegen, faisant partie aujourd'hui de Roche. Ces puces peuvent être dessinées à façon. Elles peuvent être utilisées pour travailler sur une maladie multigénique nécessitant l'amplification d'exons de nombreux gènes répartis tout au long du génome. La seconde application est l'étude de liaison restreinte à une zone d'analyse de quelques mégabases [30][33].

4- La fusion haute résolution :

Dans certaines situations, pour des raisons de temps et de coût, il peut être préférable d'opter pour une méthode de séquençage indirecte. Certains gènes comme CFTR, BRCA1 et BRCA2 sont très complexes et contiennent un grand nombre d'exons. Plutôt que de les séquencer en intégralité, une méthode de criblage préalable est plus adaptée. Nous connaissons jusqu'à présent les techniques de SCCP et DGGE. Une nouvelle méthode de criblage vient s'ajouter à la liste : la fusion haute résolution ou high resolution melting (HRM)[30].

Cette technique repose sur une simple montée en température après une PCR en temps réel .Afin de mieux comprendre le principe de la fusion haute résolution, revenons sur les deux principales techniques de génotypage utilisées aujourd'hui : l'analyse en point final et l'analyse par courbe de fusion.

- **L'analyse en point final** est fondée sur l'utilisation de sondes spécifiques d'allèle, comme les sondes Taqman™ commercialisées par Applied Biosystems. Il convient d'utiliser deux sondes : l'une spécifique de l'allèle mutée et l'une spécifique de l'allèle sauvage. Le suivi de la fluorescence après la PCR donne un nuage de points indiquant le génotype de

l'échantillon : sauvage homozygote, muté homozygote ou bien hétérozygote.

- **L'analyse par courbe de fusion** est fondée sur l'utilisation de sondes d'hybridation. Dans ce cas, une seule sonde est utilisée. Selon le T_m (température de fusion) de la séquence (échantillon sauvage ou muté), la sonde se décroche plus ou moins rapidement lors de la montée en température. Le suivi de la fluorescence donne ainsi une courbe de fusion au profil variable selon le génotype de l'échantillon. Ces deux types d'analyse permettent de mettre en évidence des mutations connues. La fusion haute résolution, qui est une évolution de l'analyse par courbe de fusion classique, permet quant à elle d'identifier des mutations inconnues.

La technique HRM est disponible chez Roche Diagnostics depuis mi-2007. Elle est utilisable avec l'automate Lightcycler 480. Contrairement aux techniques de génotypage précédemment présentées, HRM utilise non pas des sondes mais un agent intercalant fluorescent saturant : le fluorochrome Resolight.

À la fin de la PCR en temps réel, les produits PCR subissent une dénaturation initiale à 95 °C. Une phase de réhybridation permet au fluorochrome de saturer la totalité du double brin. Puis une montée très progressive de la température est effectuée de 65 °C jusqu'à 95 °C. Pendant cette montée, 25 mesures de fluorescence sont effectuées par degré, soit 750 acquisitions pour une montée de 30 °C.


L'analyse de courbe de fusion classique ne se pratiquait qu'avec 5 acquisitions de fluorescence par degré. Cette augmentation du nombre

d'acquisitions est à l'origine de la haute résolution de la méthode. L'agent intercalant fluorescent SYBR® Green ne pouvait pas être utilisé pour cette technique : n'étant pas saturant (il s'intercale toutes les trentaines de base), il peut se déplacer le long de la molécule d'acide nucléique lors de la dénaturation. La relation de proportionnalité entre la dénaturation et la variation de la fluorescence aurait donc été biaisée.


Avec le LightCycler® 480, une quantification et un dépistage de variants génétiques par HRM peuvent être effectués lors d'un même run.

La technique HRM présente une série d'avantages par rapport à d'autres techniques de criblage: sensibilité, simplicité, et rapidité du test 10 minutes dans la foulée d'une PCR en temps réel. En outre, le coût du système, des réactifs et de la maintenance est bien plus faible.

Si la fusion haute résolution est avant tout une technique de criblage, elle pourrait aussi constituer une technique de génotypage ; la précision des courbes de fusion permettait vraiment de distinguer un allèle par rapport à un autre ; et selon l'application et les attentes du laboratoire qu'il conviendra d'utiliser la HRM en tant que technique unique ou en tant que technique complémentaire. La fusion haute résolution est aussi disponible chez Qiagen avec le Rotor-Gene™ 6000 et, depuis peu, chez Applied Biosystems avec l'ABI 7500[30][34].



*Chapitre II : l'apport de la
biologie moléculaire en
diagnostic dermatologique*



I-Diagnostic des affections acquises infectieuses :

Une des principales applications diagnostiques de la biologie moléculaire est l'identification d'agents infectieux au sein d'un échantillon biologique notamment par PCR ou RT-PCR où la cible de l'amplification est un fragment spécifique d'acide nucléique de l'agent en cause, amplification qui n'est efficace que si et seulement si l'agent en question, ou en tout cas son ADN ou un de ses ARNm, est présent dans l'échantillon analysé.

On peut également utiliser des techniques morphologiques de type hybridation in situ sur coupe. Compte tenu des erreurs d'amplification, une analyse plus précise du produit d'amplification par séquençage ou hybridation par une sonde marquée spécifique est souvent souhaitable pour confirmer un éventuel résultat positif. Cette technique présente plusieurs avantages: rapidité, spécificité, nécessité d'une très faible quantité d'échantillon et d'agent infectieux, analyse de la «charge» en agent infectieux par RT-PCR en temps réel, analyse très précise de la souche en cause, notamment pour les études épidémiologiques.

En revanche, les prélèvements pour étude de l'ARN doivent être faits dans des conditions très strictes (congélation immédiate si possible) et la très grande puissance de la méthode est génératrice de faux positifs par présence de contaminants même en quantité infime ou par hybridation non spécifique des amorces parfois mal choisies.

Par ailleurs, la présence d'un fragment d'acide nucléique, même assez long, n'implique pas toujours celle de l'agent infectieux complet, actif et pathogène dans l'échantillon. Les conclusions doivent donc être prudentes.

Enfin, le résultat du traitement anti-infectieux peut être analysé soit par disparition du signal en amplification, soit par réduction de la charge infectieuse telle qu'elle est appréciée par RT-PCR en temps réel[2][35][36].

Les infections intéressant le dermatologue et pouvant bénéficier de ces méthodes sont:

A. Virus des papillomes humains (VPH) :

Les verrues sont provoquées par des virus de *la famille des virus papillome humain (HPV)* ; dont il existe de nombreuses souches. Une fois introduit dans l'organisme, le virus se fixe à un endroit précis de l'épiderme où il déclenche une prolifération anormale de cellules.

Elles prolifèrent le plus souvent au niveau du dos de la main ou des doigts, unique au début, elles peuvent devenir multiples confluant même en placard ou en trainée (figure : 9 et 10).

Indolores, leur évolution est capricieuse. Souvent, après une phase d'évolution extensive, elles peuvent régresser spontanément. D'autre fois, elles sont tenaces.

La verrue plantaire a la particularité de se développer vers l'intérieur et peut passer inaperçue au début (figure :11)[40].

En y regardant de près, on peut néanmoins observer un nodule rugueux piqué de petits points noirs correspondant aux vaisseaux sanguins coagulés sous l'effet du développement rapide de la verrue. La verrue plantaire est généralement douloureuse à cause de la pression exercée par le poids du corps.

Les verrues sont contagieuses, la contagion se fait par contact direct (peau à peau) ou indirect (par des objets) avec la partie infectée[37][38][39].

Les condylomes de l'enfant (Verrues anogénitales). Elles posent le problème épineux du mode de contamination et de la possibilité de sévices sexuels. Il est estimé que les condylomes périnéaux de l'enfant sont la conséquence d'un abus sexuels dans 3 à 35 % des cas. La transmission sexuelle des condylomes anogénitaux de l'enfant est toutefois très discutée. Une transmission périnatale est possible, les lésions induites chez l'enfant pouvant apparaître après plusieurs mois voire années, sans que l'on puisse clairement définir une limite d'âge pour distinguer les différents modes de transmission, bien que la probabilité d'abus sexuel augmente avec l'âge de l'enfant (figure :12)[41] [42].



Figure 9 : verrues du visage chez un enfant suivis à l'hôpital d'enfant Rabat (HER)



Figure 10: verrues de la main(HER)



Figure 11 : verrue plantaire[43].



Figure 12:condylome anale(HER).

❖ Diagnostic moléculaire :

L'ADN de ces virus très répandus peut en général être facilement identifié par HIS dans les cellules infectées à condition que le plan de coupe passe par une zone infectée[44].

Cette technique est nettement plus sensible que la recherche des antigènes de capside par immunohistochimie.

le Southern blot qui permet, après digestion de l'ADN, de différencier différents types d'HPV et de déterminer l'état de l'ADN viral au sein de l'échantillon (intégré ou épisomal) [45].

D'autre part, l'utilisation de sondes spécifiques permet de déterminer le(s) type(s) de VPH en cause, oncogène(s) ou non (c'est actuellement la base de la classification des différents types de VPH).

Enfin, la PCR a approuvé une extrême sensibilité, et elle a permis d'incriminer les virus dans des infections subcliniques ou latentes[46].

Les méthodes de biologie moléculaire sont donc irremplaçables dans ces infections où la mise en culture virale est actuellement impossible et où on ne dispose pas de sérodiagnostics spécifiques de type[35][44].

B. Virus herpétiques et apparentés :

❖ Herpès simplex virus:

-La primo invasion herpétique est la première manifestation due au contact avec le virus de l'herpès [47].

Elle passe le plus souvent inaperçue ou se présente sous une forme légère. Dans 10 % des cas elle peut se manifester par des symptômes beaucoup plus intenses tels qu'un contexte fébrile (39 à 40° de fièvre) et de nombreuses lésions ulcéreuses à l'intérieur de la bouche appelée « gingivo-stomatite herpétique »[48]. Les douleurs peuvent être particulièrement intenses et persister une semaine environ, à tel point que l'enfant peut refuser de manger ou de boire(figure : 13 et 14)[47][49].

-Herpès cutané récurrent (dû à la réactivation du virus) présente la caractéristique d'être récidivant. Il réapparaît de temps en temps au même endroit, souvent en période de fatigue, de fièvre ou de stress. Le plus fréquent est l'herpès labial (appelé communément "bouton de fièvre"), qui se place en général à la commissure des lèvres ; mais l'herpès cutané peut aussi apparaître sur la joue, les doigts ou ailleurs et ses proportions, parfois importantes, sont très invalidantes. Il peut aussi provoquer une sensation désagréable de démangeaisons, de picotements ou de chaleur voire de brûlure(figure : 15)[50][51].



Figure 13: Primo-infection herpétique chez un nourrisson[52].



Figure 14 : gingivostomatite chez un enfant (HER).



Figure 15: Herpès récurrent digital[53].

❖ **virus de varicelle zona :**

-La «**varicelle**» est une pathologie infectieuse commune de l'enfant. Elle survient 14 jours après la contamination. Il s'agit d'une éruption vésiculeuse généralisée associée à un prurit (démangeaisons) et à une fièvre modérée. Les vésicules contiennent un liquide transparent riche en virus. Les vésicules deviennent troubles puis forment des croûtes. La guérison survient sans traitement en 7 jours environ avec une immunité protectrice durable empêchant normalement de refaire une varicelle (figure : 16)[53][54].



Figure 16: varicelle du visage(HER).

-Le « **zona** » est une réactivation du virus provoquant une éruption cutanée localisée et des douleurs à type de brûlures. Le zona est le plus souvent thoracique mais d'autres localisations sont possibles. Il survient uniquement chez les sujets ayant fait une varicelle. Après la varicelle, le virus reste latent dans le système nerveux central. Dans certaines circonstances ou avec l'âge, il peut

recommencer à se répliquer et regagner la peau pour donner un zona (figure : 17 et 18)[53][55][56].



Figure 17: zona thoracique(HER).



Figure 18: zona ophtalmique (HER)

❖ Diagnostic moléculaire :

La PCR classique et PCR en temps réel permettent la détection du génome viral dans un tissu suspect, les principaux avantages de cette approche sont la sensibilité, la quantitatativité et la robustesse de ce système de détection qui peut être appliqué à des spécimens, relativement indépendamment de la nature du spécimen et de la durée de transport du spécimen avant analyse[58].

De plus, le développement de sondes marquées non radioactives correspondant à des séquences spécifiques de l'ADN viral permet de reconnaître spécifiquement HSV-1 et HSV-2 en une seule étape.

Enfin, ce type de test se prête à un multiplexage, c'est-à-dire à regrouper plusieurs tests (soit : HSV-1, HSV-2 et VZV) dans le même tube, permettant ainsi

de faire baisser le coût unitaire de l'analyse et d'offrir au clinicien un diagnostic rapide et de type, même si le nombre de copies virales est limité[35][36][57].

C. Virus d'immunodéficience humaine:

Au cours de l'infection par *le virus de l'immunodéficience humaine* (VIH), les manifestations cutanéomuqueuses sont présentes à tous les stades de la maladie, de la primo-infection au sida. Elles peuvent révéler la maladie et avoir un intérêt pronostique.

Les dermatoses observées sont principalement tumorales, infectieuses et iatrogènes. Les manifestations tumorales sont dominées par la maladie de Kaposi, néoplasie opportuniste et multifocale. Les manifestations infectieuses les plus communes sont virales (herpès, zona, infections à Papillomavirus) et fongiques (candidose, dermatophyties). Les infections bactériennes (streptococcies, staphylococcies, syphilis...) et parasitaires (gale) sont plus rares[59][60].

Les intolérances médicamenteuses sont fréquentes et souvent d'expression dermatologique. Elles sont dominées par les toxidermies (exanthèmes, syndromes de Stevens-Johnson, de Lyell et d'hypersensibilité médicamenteuse) qui peuvent être observées avec les sulfamides et les antirétroviraux. Les traitements antirétroviraux prolongés concourent à l'apparition du syndrome lipodystrophique[59].

❖ Diagnostic moléculaire :

La PCR est appliquée à titre diagnostique pour la primo-infection au VIH (sérologie négative) ou au cours de la surveillance de la maladie (mesure de la charge virale sanguine).

On peut également détecter la présence du VIH dans la peau par RT-PCR chez les patients VIH+, notamment dans les cellules de Langerhans[35][61].

D. Les mycobactéries :

❖ mycobactérium tuberculosis :

Les manifestations cutanées de l'infection par *mycobactérium tuberculosis* chez l'enfant est dominée par les lésions gommeuses et les scrofulodermes. Leur prédominance atteste de l'endémicité de cette affection dans notre pays.

Les gomes correspondent à la dissémination hématogène de bacilles à partir d'un foyer viscéral. Ils se manifestent par des nodules sous-cutanés qui vont se ramollir et se fistuliser créant une ulcération irrégulière à bords violacés, décollés, à fond granuleux, jaunâtre et purulent. L'évolution se fait lentement vers cicatrisation et la fibrose au prix de brides rétractiles ou chéloïdiennes(figure :19)[64].

Les scrofulodermes ou écrouelles correspondent à l'extension à la peau d'un foyer tuberculeux sous-jacent (ganglionnaire, osseux ou plus rarement épидidymaire). La peau devient rouge, inflammatoire, évoluant vers l'ulcération mimant les gomes. Ces 2 formes cliniques sont multibacillaires et surviennent chez des sujets à immunité faible à modérée attestant de l'endémicité de cette affection dans notre pays(figure : 20)[62][63][64].



Figure 19: Cicatrices déprimées et gommages multiples[62].



Figure 20 : Scrofulodermes multiples en regard d'adénopathies cervicomaxillaires[62].

❖ **Mycobacterium leprae :**

La lèpre est une maladie infectieuse chronique due à *Mycobacterium leprae*. Selon son évolution la maladie se classe en trois formes principales ; les formes tuberculoïde (T) et indéterminée (I), dites bénignes, la forme lépromateuse (L), dite maligne.

La lèpre affecte principalement la peau (macules des formes T et I) et les nerfs périphériques, et ce dans les trois formes. Les lésions cutanées de la lèpre ont les aspects les plus variés, pouvant être très discrètes, ou au contraire accentuées, allant jusqu'à des altérations monstrueuses, comme le faciès léonin. Mais leur caractère essentiel est de présenter, toujours dans les formes bénignes, et souvent dans la forme maligne, des troubles plus ou moins marqués de la sensibilité[65][66].

❖ **Mycobactéries atypiques :**

Ils présentent chez l'enfant une lymphadénite cervicale subaiguë ou chronique qui ne répond pas aux antibiotiques habituels. L'infection touche surtout les enfants en bonne santé entre un et cinq ans[67].

❖ **Diagnostic moléculaire :**

C'est surtout la PCR qui est utilisée pour la détection de ces bactéries de culture difficile et souvent peu nombreuses dans les lésions.

Là encore, de nombreux contrôles sont nécessaires (présence de mycobactéries non pathogènes dans l'environnement), mais cette méthode est riche de promesses.

Elle peut être utilisée pour la lèpre, la tuberculose (lupus tuberculeux par exemple) et les mycobactéries atypiques (permettant un diagnostic de type), suivant les amorces utilisées.

Ses résultats sont en principe beaucoup plus rapides que ceux de la mise en culture[35][68].

E. Mycoses :

Les mycoses sont moins fréquentes chez les enfants que chez les adultes, mais elles présentent des aspects très différents, selon l'âge, le terrain, mais aussi les champignons responsables : levures, dermatophytes ou champignons filamenteux. Les prématurés de petit poids de naissance sont les plus sensibles aux infections fongiques graves, en raison de l'immaturité de leur système immunitaire : les candidémies sont souvent associées à des méningites et des arthrites ; les aspergilloses et les mucormycoses débutent par une atteinte cutanée et disséminent secondairement. Chez les nourrissons, les candidoses digestives, associées à un érythème fessier, sont banales. Les teignes tondantes sont l'apanage des enfants d'âge scolaire(figure : 21 et 22).

Les mycoses sont également associées à certains déficits immunitaires congénitaux ; ainsi en est-il de la candidose cutanéomuqueuse chronique, de l'aspergillose dans la granulomatose septique chronique, de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique dans la mucoviscidose, de la maladie dermatophytique.

Enfin, les enfants immunodéprimés (cancéreux, transplantés) représentent aussi un terrain propice aux mycoses profondes, parmi lesquelles l'aspergillose est au premier plan[69][70][71].



Figure 21 : Grandes plaques d'une teigne tondante(HER).



Figure 22 ; Érythème fessier du nourrisson[71].

❖ DC moléculaire :

L'identification d'une souche à partir d'une culture positive ou analyse directe d'un échantillon par PCR ou RT-PCR ; y compris pour les infections métropolitaines « banales ».

Toutefois, ces techniques sont encore peu concurrentielles par rapport aux mises en culture et examens directs « classiques » sauf quand un résultat rapide est nécessaire, ce qui est rarement le cas[2][35][61].

II -Diagnostic des affections génétiques :

Il s'agit d'un chapitre à la limite entre diagnostic et recherche, tant l'utilisation de ces méthodes est limitée actuellement à certains cas très précis en raison de leur lourdeur et des difficultés d'interprétation.

Le mode d'utilisation potentiellement le plus intéressant de la biologie moléculaire dans cette indication est représenté par le diagnostic prénatal mais on peut aussi l'utiliser en postnatal quand le diagnostic clinique ou paraclinique « classique » n'est pas évident alors que des mesures thérapeutiques précoces s'imposent. Son principe repose actuellement surtout sur l'étude des polymorphismes de restriction ou des microsatellites, éléments variables du génome en fonction des individus.

L'étude sera pratiquée sur l'ensemble de la famille puisqu'on va tenter de mettre en évidence des sites polymorphes dits « informatifs », c'est-à-dire qui suivent le plus exactement possible la transmission de la maladie dans la famille, ou au moins qui accompagnent le phénotype pathologique quand il n'y a qu'un enfant atteint (maladies récessives).

Une autre technique est représentée par la PCR suivie d'une hybridation utilisant des amorces et des sondes spécifiques des versions normales et mutées du gène en cause ou d'un séquençage direct.

Cette méthode est beaucoup plus directe que la précédente mais nécessite une connaissance préalable précise du gène et de la mutation présente dans la famille étudiée, la séquence de l'ensemble du gène étant souvent très longue.

En matière de diagnostic postnatal, c'est surtout l'étude directe du gène qui est utilisée, soit en recherchant des mutations bien connues sur des « points chauds » (régions d'un gène où les mutations sont particulièrement fréquentes) par différents moyens proches de ceux exposés ci-dessus, ou par étude de l'ensemble du gène (exons et régions flanquantes surtout), ce qui est évidemment beaucoup plus difficile.

A. la neurofibromatose de type 1 :

Dans l'enfance, la NF1 se manifeste essentiellement par les taches café au lait et les éphélides axillaires (figure: 23 et 24), les neurofibromes apparaissant plus volontiers après la puberté (figure: 25). Les principales complications vues pendant l'enfance sont les gliomes du chiasma, la scoliose, les troubles de l'apprentissage et rarement les tumeurs nerveuses malignes (neuroblastomes) [72][73].



Figure 23 : taches café au lait(HER).



Figure 24 : Taches café au lait (HER).



Figure 25 : Neurofibrome cutané(HER).

❖ Diagnostic génétique :

Elle est liée à des mutations très diverses du gène NF1, gène suppresseur de tumeurs particulièrement complexe, situé en 17q et qui code pour la neurofibromine.

La neurofibromine a une activité RAS-GAP putative, c'est-à-dire qu'elle inhiberait la transduction par la protéine membranaire RAS de signaux, notamment promitotiques, en activant la fonction GTPase de RAS (d'où le nom de RAS-GAP signifiant RAS-GTPase activating protein), activation qui se traduit par l'hydrolyse du GTP en GDP. Cette hydrolyse interrompt finalement la transmission du signal par RAS. Toutefois, il ne s'agit pas là de sa seule fonction biochimique mais les autres sont encore hypothétiques[35].

Le diagnostic de la neurofibromatose de type 1 repose avant tout sur les données nosologiques. Dans un certain nombre de cas, une étude familiale ou la recherche de la mutation causale semble souhaitable.

Dans les cas familiaux, la stratégie de diagnostic indirect repose sur l'analyse de ségrégation de polymorphismes de l'ADN de type STR (simple-sequence tandem repeat) localisés dans les introns 26, 27 et 38. D'autres marqueurs, bialléliques (RFLP, insertion/délétion de séquences Alu, L1), peuvent aussi être utilisés[74].

Dans les cas sporadiques, qui représentent environ la moitié des cas de neurofibromatose de type 1, l'utilisation des polymorphismes de l'ADN, nonobstant les cas de délétion intragénique, est inopérante. Le diagnostic direct

est alors fondé sur la mise en évidence de la mutation. Les techniques classiques de détection des mutations ponctuelles telles la SSCP ou la DGGE n'ont permis de caractériser que 20 à 25 % environ des anomalies moléculaires. L'étude de l'ADNc par une technique de transcription-traduction in vitro (test du peptide tronqué, ou PTA pour protein truncation assay) qui cible les mutations responsables d'une interruption de la phase codante semble la plus adaptée à la pathologie moléculaire de la neurofibromatose de type 1. Cette approche permet une couverture théorique de 80 % des mutations ponctuelles [74][75] ;

B. la neurofibromatose de type 2 :

Les manifestations cutanées sont inconstantes et le plus souvent discrètes. Les taches cafés au lait sont présentes dans environ la moitié des cas, et en moins grand nombre que pour le type 1, généralement au nombre de deux .

Les tumeurs cutanées, schwannomes et moins fréquemment neurofibromes sont présents chez environ 70 % des malades ; elles sont peu nombreuses moins d'une dizaine.

Les anomalies oculaires sont fréquentes, et les schwannomes vestibulaires sont quasiment constants. Le diagnostic en est généralement fait à la troisième décennie, d'où la nécessité de rechercher Les critères diagnostiques de NF2 dès la première année de vie dans les populations à risque [76][77].

❖ Diagnostic génétique :

Elle est liée à des mutations du gène NF2 sur le chromosome 22 dans la région 22q12.2, qui code pour la schwannine, gène également impliqué dans la neurilemmomatose ; il s'agit là encore d'un gène suppresseur de tumeur très probable mais sa fonction n'est pas encore clairement identifiée[72][35] ;

C. la sclérose tubéreuse de Bourneville :

La STB est souvent évoquée devant des convulsions précoces, néanmoins elle peut aussi être découverte grâce à l'examen dermatologique qui peut mettre en évidence les macules achromiques caractéristiques qui sont très précoces. Plus tard, les angiofibromes de la face sont également très évocateurs (figure : 26 et 27), ainsi que les hamartomes collagènes et les tumeurs de Koenen. Comme dans la NF, un suivi clinique au long cours est nécessaire compte tenu des complications potentielles, notamment les rhabdomyomes cardiaques[38][78][79].



Figure 26 : Tache hypopigmentée[78]



Figure 27 : angiofibromes faciaux (forme minime)[78]

❖ Diagnostic génétique :

Elle est liée à des anomalies d'au moins deux gènes TSG1 et TSG2 très probablement suppresseurs de tumeur[80], l'un en 9q34 et l'autre en 16p13 ; le premier code pour une protéine de 130 kDa appelée hamartine, sans fonction définie pour l'instant et sans homologie avec d'autres protéines dans le génome des mammifères.

Le deuxième code pour une protéine de 1 784 acides aminés nommée tubérine qui présente des analogies avec la neurofibromine avec notamment un probable domaine de type RAS-GAP.

Des pertes d'hétérozygotie du gène codant pour la tubérine ont été retrouvées dans des hamartomes rénaux de patients atteints de cette maladie, ce qui est un argument en faveur du rôle tumeursuppresseur de ce gène [78][35];

D. l'incontinentia pigmenti (IP) :

L'IP est une génodermatose rare de transmission dominante liée à l'X. Les signes dermatologiques de l'IP sont très spécifiques et quasi constants.

Il existe des critères cliniques permettant de poser le diagnostic (Landy 1993). En l'absence de cas familiaux, la présence d'un seul critère majeur est suffisante pour porter le diagnostic: éruption néonatale vésiculeuse linéaire typique, hyperpigmentation caractéristique et/ou alopecie atrophique linéaire. Les critères mineurs ne font que conforter le diagnostic: atteinte dentaire, atteinte rétinienne, alopecie et/ou cheveux laineux. En revanche, si le patient a un parent

de sexe féminin du premier degré reconnu atteint, la présence d'un critère mineur suffit pour porter le diagnostic d'IP (figure : 28 et 29).

Le pronostic est lié à l'atteinte neurologique qui peut être responsable d'une comitialité et d'un retard mental, mais également à l'atteinte rétinienne qui peut mettre en jeu la fonction visuelle. Une enquête familiale est nécessaire: recherche d'antécédents familiaux du côté maternel, examen de la mère et des autres femmes de la famille[81][82][83].



Figure 28 : aspect hyperpigmentaire des lésions en « jet d'eau » au niveau du dos d'un nourrisson[85]



Figure 29: Vésiculo-bulles de disposition linéaire et d'âges différents au cours du incontinentia pigmenti[84].

❖ Diagnostic génétique :

Le gène NEMO (NF-Kappa B Essential MOdulator ou gène IKK γ) dont des mutations sont responsables de l'IP a été identifié en 2000. Il code pour une sous-unité régulatrice du complexe enzymatique I- κ B-kinase (IKK)[80].

Ce complexe est indispensable à l'activation de NF- κ B, facteur de transcription dont le rôle est de contrôler l'activité de nombreux gènes cibles codant pour des cytokines, des molécules d'adhésion, des chémokines, et des molécules antiapoptotiques.

Chez 80 % des patients, la mutation est la même ; un réarrangement intragénique complexe emporte les exons 4 à 10, et conduit à une absence complète d'activation de la voie NF- κ B[35][86].

E. les épidermolyses bulleuses congénitales :

Les EBH sont des génodermatoses caractérisées par une fragilité cutanée anormale entraînant la formation de bulles et d'érosions cutanées et parfois muqueuses par clivage entre l'épiderme et le derme; leur gravité très variable est dépendante du niveau de clivage. Les EBH sont classées en épidermolyses bulleuses simples (EBS) dont le niveau de clivage est intrakératinocytaire respectant la membrane basale, épidermolyses jonctionnelles (EBJ) où le clivage se situe au sein de la jonction dermoépidermique (lamina lucida) et les épidermolyses bulleuses dystrophiques (EBD) dont le clivage est situé juste sous la membrane basale.

Les EBS se transmettent le plus souvent sur le mode dominant; elles sont compatibles avec une vie quasiment normale si le sujet évite le plus possible les phénomènes de friction sur sa peau(figure :30)[87][88].

Les EBJ sont les plus graves. La forme la plus fréquente est l'EJB de type Herlitz (anomalie laminine 5), qui atteint non seulement la peau mais également tous les autres épithéliums (respiratoires, digestifs...); elle entraîne le décès au cours de la première année de vie(figure :31 et 32)[88][90].

Les EBD sont également souvent récessives; elles ne sont pas létales, mais elles entraînent des handicaps importants. Les patients cicatrisent sur un mode atrophique avec grains de milium; progressivement apparaissent des troubles nutritionnels et fonctionnels (mutilation des extrémités, rétractions tendineuses)(figure : 33)[89][90].



Figure 30 : épidermolyse bulleuse simple forme Koebener(HER).



Figure 31 : épidermolyse bulleuse jonctionelle form herlitz(HER).



Figure 32 : épidermolyse bulleuse jonctionelle acrale(HER)



Figure 33: les lésions cicatricielles avec grains de milium(HER).

❖ **DC génétique :**

➤ **Épidermolyses bulleuses simplex (EBS) :**

Elles sont autosomiques dominantes en général, surtout liées à des mutations des kératines basales 5 et 14 qui s'associent en tandem pour former les filaments intermédiaires de kératine[80].

Les mutations en cause ont été bien étudiées dans les différents sous-types et il existe une certaine corrélation entre génotype et phénotype : mutations des extrémités des domaines hélicoïdaux dans les formes de Dowling-Meara, assez sévères, avec un point chaud particulier sur le codon 125 (de la kératine 14 surtout) et des difficultés à l'élongation des filaments ; mutations des régions de

liaison entre les éléments du tandem (région « linker » L1-2) avec difficultés d'association entre kératine 5 et 14 dans les formes de Cockayne -Weber palmoplantaires ; mutations assez variables pour les formes généralisées de type Koebner, sur les linkers , les extrémités ou le centre de la région hélicoïdale, avec des mutations surtout faux sens dont certaines sont récurrentes ; mutations du domaine V-1 de la kératine 5 dans les EBS acrales avec pigmentation en motte du tronc et des racines des membres associée à une kératodermie palmoplantaire ponctuée.

Une forme particulière associant EBS et dystrophie musculaire est liée à des mutations du gène codant pour la plectine, molécule impliquée dans l'ancrage des filaments intermédiaires à la membrane plasmique[35][91].

➤ **Épidermolyses bulleuses jonctionnelles :**

La forme létale de type Herlitz autosomique récessive est en général due à des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites (deux mutations différentes d'un même locus) d'une des chaînes du trimère formant la laminine 5, élément essentiel des filaments d'ancrage.

Chacune des trois chaînes alpha, bêta ou gamma, codées respectivement par les gènes LAMA3, LAMB3 et LAMC2 peut être en cause[80].

Les mutations sont en général de type non-sens avec codon stop prématuré et protéine tronquée non fonctionnelle.

Elles sont généralement « privées » (c'est-à-dire particulières à une famille donnée) avec toutefois des profils mutationnels voisins dans un même pays, un diagnostic prénatal est possible.

La forme associée à une sténose du pylore est liée à des mutations des gènes codant pour la chaîne alpha ou bêta de l'intégrine alpha 6-bêta 4 des kératinocytes basaux, cette intégrine étant le ligand kératinocytaire de la laminine 5.

La forme dite généralisée « bénigne » (pour la différencier du Herlitz) ou GABEB (generalized atrophic benign epidermolysis bullosa) est due à des mutations du gène codant pour le collagène XVII, protéine qui n'est autre que l'antigène 2 (BPAG2, 180 kDa) de la pemphigoïde bulleuse.

Ce gène est situé en 6p11-12 et comprend 56 introns répartis sur 48 kb d'ADN génomique.

La protéine a un domaine globulaire intracellulaire et un domaine C-terminal extracellulaire alternant séquences collagéniques et non collagéniques.

Une dizaine de mutations différentes ont été retrouvées chez les patients européens, toutes situées sur le domaine extracellulaire, ce qui entraîne la perte du signal en immunohistochimie.

D'autres formes non létales d'EB jonctionnelles sont dues à des mutations des gènes codant pour une des chaînes de la laminine 5[35].

➤ **Épidermolyses bulleuses dystrophiques :**

Les formes dominantes et récessives habituelles sont dues à des mutations du gène codant pour la chaîne alpha 1 du collagène VII, protéine majoritaire des fibrilles d'ancrage du derme superficiel et qui joue bien sûr un rôle majeur dans la solidité de la jonction dermoépidermique[78]. Il s'agit du gène le plus riche en exons connu à ce jour (118 exons) s'étendant sur environ 32 kb sur la région 3p21.1.

Plus de 50 mutations ont été décrites, de différents types : mutations non sens, faux sens, notamment substitutions de glycine dans le domaine collagénique central, petites délétions ou insertions avec déplacement du cadre de lecture, anomalies de l'épissage.

Le type, la position sur la molécule et la combinaison éventuelle (si les deux allèles sont mutés) de ces mutations détermine la sévérité du phénotype pathologique et le mode de transmission.

Ainsi, une mutation monoallélique avec une molécule tronquée précocement n'affectera pas l'assemblage de l'autre version, normale, de la protéine ; cette mutation ne s'exprimera donc que si l'autre allèle est également muté et la transmission sera donc récessive.

En revanche, une mutation monoallélique aboutissant à une molécule de taille normale mais dont la séquence et la fonction sont modifiées, affectera l'assemblage de toutes les fibrilles de collagène VII.

C'est ce caractère « dominant négatif » qui explique la transmission dominante dans ce cas.

Un diagnostic prénatal est possible mais souvent long car il n'existe pas de mutation prédominante en termes de fréquence.

Les formes pré-tibiales sont également dues à des mutations de ce gène, dont les anomalies semblent donc en cause dans l'ensemble des formes cliniques des EB dystrophiques[35][91].

F. Ichtyoses :

Il existe de nombreuses formes d'ichtyoses héréditaires. Les plus graves peuvent se manifester dès la période néonatale, sous l'aspect dit de «bébé collodion» [92] (figure : 34).

Ce terme désigne un état cutané pathologique néonatal caractérisé par une peau vernissée comparable à une pellicule de collodion séchée. Il doit être différencié des simples hyperkératoses collodionnées de la postmaturité ainsi que du kératome malin (foetus Arlequin), forme la plus grave d'ichtyose connue, dans laquelle le foetus apparaît recouvert d'une «carapace» rigide et fissurée et dont l'évolution est le plus souvent fatale dans les premiers jours de vie. Dans le syndrome de bébé collodion, le revêtement cutané apparaît tendu et luisant, il est responsable de l'apparence caractéristique du visage associant un ectropion et un éclabion, des oreilles recroquevillées, et de l'aspect ganté des extrémités. La peau est rigide au toucher donnant l'impression d'une membrane plastifiée; on note rapidement des fissures au fond des plis à partir desquelles commence la desquamation(figure :34)[90].

Dans 90 % des cas, il existe une ichtyose sous-jacente, le plus souvent une ichtyose lamellaire (40 % des cas) ou une érythrodermie ichtyosiforme sèche (40 % des cas)(figure :24 et 25). Parfois, il s'agit d'une ichtyose vulgaire (figure : 26)ou plus rarement d'une trichothiodystrophie ou une dysplasie ectodermique. En revanche, l'ichtyose liée à l'X, qui se présente sous la forme de grandes squames grisâtres d'aspect sale chez un garçon, n'est jamais précédée d'un état collodionné (figure : 35 et 36) [87][93].



Figure 34 : bébé collodion(HER).



Figure 35 : Ichtyose vulgaire chez un enfant de 6 ans(HER).



Figure 36 : ichtyose lamellaire(HER).

❖ Diagnostic génétique :

Il s'agit probablement, avec les épidermolyses bulleuses, des génodermatoses les plus étudiées par les biologistes moléculaires.

Pourtant, un grand nombre d'inconnues demeurent, nettement plus que pour les maladies mécanobulleuses, probablement en raison d'une plus grande hétérogénéité génétique.

Les ichtyoses vulgaires causée par des mutations semi-dominantes du gène de la profilaggrine FLG. Ces défauts se traduisent dans une expression variable de l'ARN et des produits protéiques de la profilaggrine, la composante majeure des granules de kératohyaline. La morphologie qui en résulte est caractérisée par une hyperkératose de rétention avec absence ou diminution de la couche granuleuse[80].

L'ichtyose « noire » liée à l'X est bien connue et est due à des mutations (délétions essentiellement ; mutations ponctuelles moins fréquemment) du gène de la 3-bêta- stéroïde sulfatase situé en Xp22.3 ; des anomalies d'un autre gène non encore identifié sont possibles[68][81].

Les érythrodermies ichtyosiformes récessives sont très hétérogènes sur les plans clinique et génétique, ce qui ne facilite pas leur étude.

Dans un sous-groupe de patients atteints d'ichtyose lamellaire, des anomalies du gène TGM1 codant pour la transglutaminase 1 kératinocytaire situé en 14q11 ont été retrouvées. Cette enzyme lie entre elles les protéines de l'enveloppe cornée, notamment la loricrine, par leurs résidus glutamine[35][94].

Les mutations sont surtout des substitutions sur une région très conservée de la protéine, notamment sur des arginines, mais des mutations non sens sont également possibles.

D'autres gènes ont récemment été identifiés, des mutations du gène ABCA12, codant pour l'adenosine triphosphate-binding cassette A12 qui jouerait un rôle dans le transport lipidique dans le stratum corneum et du gène FLJ39501 qui code pour une protéine du cytochrome p450 (CYP4F2) une ω -hydroxylase des acides gras qui serait impliquée dans la voie de la lipooxygénase, ont été rapportées [94].

Dans l'autre sous-groupe ECINB (Érythrodermie congénitale ichtyosiforme non bulleuse) des mutations des gènes codant pour deux lipooxygénases (ALOXE3 et ALOX12B) qui catalysent l'oxydation de l'acide arachidonique en hépoxilines (dérivés epoxyhydroxy d'acides gras) et du gène codant pour l'ichthyine, un récepteur membranaire aux hépoxilines, ont récemment été décrits. Ces hépoxilines pourraient contribuer à la formation de la phase lipidique lamellaire de la barrière cutanée et/ou servir de signal pour promouvoir la différenciation cutanée [94][95].

Le syndrome de Sjögren-Larsson , autosomique récessif, qui associe une érythrodermie ichtyosiforme sèche congénitale à des troubles neurologiques avec tétraparésie spastique et retard mental , est lié à des mutations du gène codant pour un aldéhyde gras déshydrogénase, situé en 17p11.2 [94].

Cette enzyme intervient dans le métabolisme oxydatif des aldéhydes aliphatiques à longue chaîne et son déficit entraîne une accumulation d'alcools

gras dont le pouvoir pathogène n'est pas encore compris. Les mutations sont surtout de type faux sens portant sur une région hautement conservée et cruciale pour la fonction de l'enzyme[35].

Les érythrodermies congénitales bulleuses sont elles aussi hétérogènes sur le plan génétique mais la situation est plus claire que pour les formes « sèches ». En effet, l'érythrodermie bulleuse de type Siemens, autosomique dominante, est liée à des mutations dominantes négatives du gène codant pour la kératine de type 2e, gène situé en 12q11-13 [94].

Ces mutations sont avant tout des substitutions, portant notamment sur l'acide glutamique en position 117 qui apparaît comme un véritable « point chaud » de cette molécule. Quoiqu'il en soit, les mutations déstabilisent les interactions entre les chaînes de kératine et le couplage, obligatoire, entre kératine de groupe I et II ne peut se faire correctement pour le couple comprenant la kératine 2e, ce qui explique la fragilité du corps muqueux et l'acanthokératolyse[35][95].

L'érythrodermie ichtyosiforme congénitale bulleuse est liée, de façon assez similaire, à des anomalies des gènes codant soit pour la kératine 1 soit pour la kératine 10 qui font partie du même « couple » caractéristique des régions épidermiques suprabasales[95].

Les mutations sont bien connues pour la kératine 10 et sont surtout des substitutions portant sur l'arginine 156 dans la région hautement conservée du domaine hélicoïdal 1-alpha, là encore sorte de point chaud moléculaire[94].

Les perturbations engendrées dans l'une ou l'autre molécule de kératine perturbent profondément la formation du couple, dont l'absence est responsable de la fragilité cutanée.

De façon très intéressante, des mutations des mêmes gènes sont retrouvées dans les nævus épidermolytiques ; il s'agit alors de mutations postzygotiques dites en mosaïque, qui affectent seulement certaines cellules de l'organisme.

Si les cellules germinales sont également touchées par la mutation, les individus atteints de ce type de nævus peuvent donner naissance à des enfants atteints d'érythrodermie congénitale bulleuse classique.

Certains cas d'érythrodermie variable sont dus à des mutations du gène codant pour la loricrine, gène situé en 1q21, la protéine représentant environ 75 % des protéines de l'enveloppe cornée des cornéocytes. La mutation dans la famille étudiée est une insertion d'une base entraînant un déplacement du cadre de lecture et addition de 65 acides aminés.

Dans d'autres cas, des mutations d'un gène codant pour une connexine hératinocytaire (G31) ont été incriminées[35].

G. Le xeroderma pigmentosum :

Le Xeroderma pigmentosum est une génodermatose de transmission autosomique récessive, il est caractérisé par une sensibilité accrue aux UV et à la lumière du soleil. Un vieillissement accéléré de la peau est observé chez les

patients ainsi que l'apparition de brûlures, de troubles de la pigmentation et le développement inévitable de lésions des yeux et de la peau pouvant conduire à de multiples cancers (figure : 37 ;38 et 39). Cette pathologie est liée à un défaut dans les gènes du système de réparation par excision-resynthèse des nucléotides (nucleotide excision repair ,NER) pour les sept premiers groupes génétiques (A–G), et à une anomalie des gènes de la transcription pour le huitième groupe (xeroderma pigmentosum variant, XPV) [96][97].

Des tableaux cliniques variables sont observés en fonction du temps, des patients et des différents groupes de complémentation. Ainsi les patients atteints de la forme XPA présentent généralement une symptomatologie très sévère avec des anomalies neurologiques importantes alors que les patients souffrant de la forme XPE présentent des symptômes relativement légers et pas de trouble neurologique.

L'évolution de la morphologie des éruptions dans le temps est étroitement liée à l'exposition au soleil. Les premiers signes de cette hypersensibilité se manifestent vers 1-2 ans par l'apparition de brûlures à la suite à d'une exposition au soleil même légère. Plus tard, apparaissent des lésions cutanées telles que sécheresse, tache de rousseurs et télangiectasies. La survenue de cancer de la peau sur les zones exposées est fréquente chez les patients atteints de Xeroderma Pigmentosum. L'âge médian pour l'apparition de ce type de lésion est 8 ans [96][97].

Par ailleurs, certains patients souffrent de troubles de la vision (photophobie, ectropion...), et un cinquième des patients présente en plus des

troubles neurologiques(troubles de la marche, aréflexie, retard mental...)
[96][97].



Figure 37 : Stade de début de Xeroderma pigmentosum(HER).



Figure 38 : Xeroderma pigmentosum (Stade de l'érythème persistants s'accompagnant de macule achromique)(HER).



Figure 39 : stade dépacé de Xeroderma pigmentosum avec cancer cutané(HER).

❖ Diagnostic génétique :

Xeroderma pigmentosum est provoquée par des mutations dans les gènes codant pour les protéines de réparation de l'ADN :

- le type A au gène XPA qui code pour une protéine reconnaissant les lésions de l'ADN ;
- le type B au gène ERCC-3 (excision repair cross complementation) qui code une protéine de 44 kDa ayant une activité hélicase (« détorsion » de la double hélice) et qui est une sous-unité du complexe IIH de transcription de type TFIIH;
- le type C au gène XPC, qui reconnaît très précocement un large spectre de lésions de l'ADN, lésions ensuite « confirmées » par la protéine XPA ;
- le type D au gène ERCC-2 qui code pour une hélicase appartenant à aussi au complexe TFIIH [35];
- le type E au gène DDB1 ou DDB2 qui reconnaît et se lie aux régions de l'ADN lésées par les UV[35] ;
- le type F au gène ERCC-4 ou ERCC-11 qui code pour exonucléase en 5'' par rapport à la lésion de l'ADN ;
- le type G au gène ERCC-5 qui code pour une exonucléase en 3' par rapport à la lésion[68] ;
- _ le type variant au gène POLH qui code ADN-polymérase de type ϵ [80][98][99].

Les mutations mises en évidence dans tous ces sous-types sont assez diverses et une simple mutation faux sens peut suffire à faire disparaître l'activité de la protéine comme par exemple pour le gène XPA. On voit également à travers ces diverses anomalies les relations très étroites qui existent entre régulation de la transcription et réparation de l'ADN ; dans les deux cas, les complexes protéiques en cause sont en partie identiques notamment pour le complexe à activité hélicase liant l'ARN polymérase[35].



CONCLUSION



La biologie moléculaire a apporté un progrès considérable dans le diagnostic des maladies cutanées surtout avec les nouvelles technologies de la biologie moléculaire, l'automatisation et la bioinformatisation de ces techniques. Cependant elle reste encore un domaine de la recherche compte tenu de sa complexité et son coût qui reste non négligeable.

Les techniques de la biologie moléculaire sont des techniques prometteuses qui offrent une meilleure sensibilité et spécificité et un gain de temps considérable comparées aux méthodes conventionnelles. Les techniques de prélèvements et les limites de ces méthodes doivent notamment être bien connues afin d'éviter des erreurs, des gestes inutiles et des interprétations abusives parfois lourdes de conséquences pour des raisons diverses.

Notamment, l'absence d'anomalie détectée ne signifie pas qu'elle n'est pas présente, mais qu'elle est inférieure au seuil de détection de la méthode, tandis que certaines variations de séquences correspondent à des polymorphismes sans conséquence et non à des mutations délétères. À l'inverse, un résultat positif (par exemple amplification d'une séquence) doit être interprété avec précaution en raison de l'extrême sensibilité de certaines méthodes et la biologie moléculaire n'est alors, dans certains cas, qu'un élément d'un faisceau d'arguments.

En dehors du décryptage progressif de la base génétique des génodermatoses, la biologie moléculaire permet un diagnostic rapide et fiable d'un nombre croissant de maladies infectieuses surtout bactériennes et virales, le diagnostic et le suivi de certaines affections tumorales acquises le diagnostic

postnatal et parfois prénatal de nombreuses génodermatoses, notamment avec prédisposition aux tumeurs.

L'avenir est, d'une part, à la vérification des relations entre un phénotype donné et une mutation précise sur un gène donné, qui permettra d'éclairer en retour la fonction de la protéine impliquée et d'une façon plus générale la physiologie cutanée et parfois extracutanée, et, d'autre part, aux applications thérapeutiques qui commencent à être imaginées, soit en apportant la protéine manquante ou défectueuse, soit, ce qui est encore plus séduisant mais difficile à réaliser pour l'instant, en corrigeant le défaut génétique lui-même en apportant une version normale du gène lésé, ce qui s'appelle la thérapie génique.



RESUMES



Résumé

Titre : La biologie moléculaire et le diagnostic des maladies cutanées.

Auteur : MORSSSE Noha.

Mots clés : Biologie moléculaire – dermatoses - enfant- diagnostic moléculaire.

La biologie moléculaire est l'étude de la structure et des fonctions des macromolécules biologiques, et plus particulièrement des acides nucléiques (ADN et ARN). Elle constitue un point de rencontre entre la génétique et la biochimie.

La découverte de la PCR dans les années 80 a révolutionné la biologie moléculaire ; et a rendu son usage accessible à de nombreux laboratoires dans le cadre du diagnostic.

Ainsi l'automatisation de ses techniques, et l'utilisation en pratique des nouvelles technologies (puces d'ADN, séquençage haut débit, et fusion à haute résolution) ont apporté un gain de temps considérable, une meilleure sensibilité et spécificité comparées aux méthodes conventionnelles de diagnostic.

La dermatologie a largement bénéficié de ces techniques dans le diagnostic, et la compréhension d'affections très diverses, génodermatoses au premier chef mais aussi maladies acquises infectieuses. Même si la plupart des génodermatoses ont été identifiées sur le plan génétique, les relations génotype-phénotype restent à établir dans un grand nombre de cas, ce qui constitue un défi majeur pour l'avenir.

La biologie moléculaire reste encore un domaine de la recherche compte tenu de sa complexité, ses exigences techniques concernant sa mise en œuvre et les contrôles de qualité, et en fin son coût qui reste non négligeable.

Abstract

Title: Molecular biology and the diagnosis of skin diseases.

Author: MORSSSE Noha.

Key words: Molecular biology -skin diseases - child - molecular diagnosis.

Molecular biology is the study of the structure and function of biological macromolecules, more particularly of nucleic acids (DNA and RNA). It is a meeting point between genetics and biochemistry.

The discovery of the PCR in the 80s revolutionized molecular biology; and made available to its use in many laboratories in the diagnosis

The automation of its technical and the practical use of new technologies (DNA chips , high speed sequencing , and high-resolution melting) brought a considerable time savings , improved sensitivity and specificity compared to conventional methods of diagnosis.

Dermatology has greatly benefited from these techniques in the diagnosis and understanding of a variety of diseases, genodermatoses primarily but also infectious diseases. Although most genodermatoses were identified genetically, genotype-phenotype relationships remain to be established in a number of cases, which is a challenge for the future.

Molecular biology is still an area of research because of its complexity; its technical requirements for implementation and quality control ; and its cost that is not negligible.

ملخص

العنوان : البيولوجيا الجزيئية و تشخيص الأمراض الجلدية.

الكاتب : نهى مورصي .

الكلمات الأساسية: البيولوجيا الجزيئية - الأمراض الجلدية - طفل - تشخيص جزيئي.



البيولوجيا الجزيئية هي دراسة بنية ووظيفة الجزيئات البيولوجية ، ولا سيما الأحماض النووية (DNA و RNA) . وهي تشكل نقطة إلتقاء بين علم الوراثة والكيمياء الحيوية.

وقد أحدث إكتشاف تقنية التفاعل التسلسلي البوليميري (PCR) في الثمانينات ثورة البيولوجيا الجزيئية, وجعل إستخدامها كوسيلة للتشخيص متاحا في العديد من المختبرات.

كما أن أتمتة تقنياتها و الاستخدام العملي للتكنولوجيات الجديدة (رقائق DNA ، التسلسل عالي السرعة، والذوبان عالي الدقة) مكن من توفير الوقت، وتحسين حساسية وخصوصية التشخيص بالمقارنة مع الطرق التقليدية .

لقد إستفاد طب الأمراض الجلدية من تقنيات البيولوجيا الجزيئية في مجال التشخيص, وفهم مجموعة متنوعة من الامراض, خاصة الأمراض الجلدية الجينية بالإضافة إلى الأمراض المكتسبة التعفنية . على الرغم من تحديد هوية معظم الأمراض الجلدية الجينية وراثيا ، لا تزال العلاقات بين النمط الجيني و النمط الظاهري في عدد من الحالات غير مكتملة, مما يشكل تحديا للمستقبل.

لا تزال البيولوجيا الجزيئية مجالا للبحث بسبب تعقيدها ، ومتطلبات تنفيذ ومراقبة جودة تقنياتها ، و تكلفتها الكبيرة



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - **Laudenbach V, Mantz J, Desmonts J.M.** Comprendre la biologie moléculaire. Elsevier, Paris, Ann Fr Anesth Réanim 1999 ; 18 : 725-747.
- 2 - **Dereure O.** Biologie moléculaire en dermatologie. EMC (Elsevier SAS, Paris), Dermatologie, 98-110-A-10,2005.
- 3 - **MORANGE M.** Brève histoire de la biologie moléculaire. Elsevier, Paris, BIOFUTUR - FBVRIER 1995.
- 4 - **MULLIS K.B. les applications de la PCR.** La recherche ; 23 ; p : 1467 ; 1992.
- 5 - **MULLIS K.B , FALOONA F.A.** Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. Methods Enzymol ; 155;p:335-350;1987.
- 6 - **Etienne J, Clauser E, et al.** Biochimie génétique Biologie moléculaire. Abrégés PCEM 1, Elsevier Masson; 9e édition ,2006 ; 13-30 /180-202 /166-172.
- 7 - **Freifelder D.** Biologie moléculaire. Ed Masson, paris, 1990 : 28-46 / 174-175.
- 8 - **Passarge E.** Atlas de poche génétique. Médecine Sciences Flammarion. Editions 2003 : 20-322.
- 9 - **Percheron F, Perles R, Foglietti M.J.** Abrégé de biochimie générale. Tome 1.Ed Masson 1985 : 144-197.
- 10 - Nature du gène(Cours de Neurosciences).2005. <http://www.cours-de-neurosciences.com/perspective-generale/les-genes-et-le-comportement/>
- 11 - Prediction of Nucleosome Positioning and Occupancy Using a Statistical Mechanics Model. September 12, 2012. <http://pharmaceuticalintelligence.com>

/2012/09/12/prediction-of-nucleosome-positioning-and-occupancy-using-a-statistical-mechanics-model/

12 - **Francina A.** Cours de biologie moléculaire: faculté de médecine GRANDE-BLANCHE. P.C.E.M 1(les techniques de base de la biologie moléculaire), 2000-2001.

13 - **Blessum C, Jeppsson J.O et al.** L'électrophorèse capillaire : principe et applications au laboratoire de biologie clinique. Annales de biologie clinique, revues générales. Novembre-Décembre 1999 ; Volume 57, Numéro 6,643-657.

14 - **CAZENAVE J, CHEYROU A, BLOUIN P.** BIOLOGIE MOLECULAIRE, Bases méthodologiques et principales applications diagnostiques. Revue générale, Réan. Urg., 1995, 4 (3), 279-289.

15 -les techniques du génie génétique. A.M. – 2010. <http://tp-svt.pagesperso-orange.fr/geniegen.htm>

16 - **Haras D, Amoros J.P.** Réaction de polymérisation en chaine, sondes froides et diagnostiques clinique. Cahiers santé 1994 ; 4 : 43-52.

17 - **Alberts B, Bray D et al.** Biologie moléculaire de la cellule. Editions Médecine Sciences Flammarion 2001 : 58-59 ; 100-101 ;291-308 ;316-317 ;863-870 ;1255-1273.

18 - **Santoni S, Faivre-Rampant P et al.** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. Cahiers d'études et de

recherches francophones / Agricultures, Ressources génétiques. Juillet- Août ;
Volume 9, Numéro4, 311-327.

19 - **Bart –Delabesse E, Bretagne S.** Génotypage d'aspergillus fumigatus :
Principe des méthodes et applications. Revue Française des Laboratoires.
Février-Mars 2000 ;N° 320.

20 - **Orac.** Oh, no! There's DNA in my Gardasil! Or is there?. September 6, 2011.
<http://scienceblogs.com/insolence/2011/09/06/oh-no-theres-dna-in-my-gardasil/>

21 - Détection des mutations de résistance aux antirétroviraux par séquençage
du génome du VIH. Revue Française des laboratoires. Mars 2001 ; N° 331.

22 - **Lerebours F.** Méthodes de détection des mutations dans les cancers
humains. Bulletin du cancer. Octobre 1999 ;86(10) :876-9.

23 - **Loric S.** Biochimie structurale, métabolique et clinique : les méthodes
d'analyse des variations de séquence des acides nucléiques. Moniteur de
l'internat. Tome 4.2ème ed. Ed Groupe Liaison SA, 2001 :49-70.

24 - **Cavé H, Acquaviva C et al.** La RT-PCR en diagnostic clinique. Annales de
biologie clinique. Novembre-Décembre 2003 ; volume 61, N°6 :635-44.

25 - **Tse C, Capeau J.** Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative
en temps réel. Annales de biologie Clinique. Mai-Juin 2003 ; vol.61, n°3.

26 - **Elyse P, et Alain H.** La PCR en temps réel: principes et applications. Reviews
in Biology and Biotechnology. Vol.2, No 2, December 2002. pp.2-11.

27 - PCR with SYBR green. [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:PCR with SYBR green.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:PCR_with_SYBR_green.jpg).

28 – **D. Baron, M. Raharijaona, R. Houlgatte**. Puces à ADN. IRBM, Volume 28, Issues 5–6, November–December 2007, Pages 210-215.

29 – **Jérôme Hinfray**. Puces à ADN, les intérêts rebondissent. Biofutur, Volume 1999, Issue 194, November 1999, Pages 91-92.

30 - **Éric Leroy-Terquem**. Les nouvelles technologies de biologie moléculaire en diagnostic. Option/Bio, Volume 20, Issue 412, February 2009, Pages 9-13.

31 – **K. Bourdé-Vacher, D. Khenfer, et al.** Nouveautés en biologie moléculaire. IRBM News, Volume 30, Issue 3, July 2009, Pages 17-23.

32- **Claude Naudin**. JIB 2008 : Avancées en biologie .Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2009, Issue 411, April 2009, Pages 23-26.

33 – **J. Lamoril, N. Ameziane, J.-C. Deybach, et al.** Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 23, Issue 5, October 2008, Pages 260-279.

34 -**M. Chomarat, F. Breysse**. Technique d'analyse des courbes de fusion haute résolution (FHR) ou High Resolution Melting analysis (HRM) en infectiologie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 26, Issue 4, August 2011, Pages 207-211.

35 - **Dereue O, Augias D, at al.** Biologie et génétique moléculaires. ECM (Elsevier,paris), Dermatologie, 98-110-A-10 , 1999,21 p.

36 - **A. Frenkian-Torres, M. Toledo.** La biologie moléculaire en diagnostic infectieux. IRBM News, Volume 35, Issue 2, April 2014, Pages 42-53.

37 - **Klink R, Kremp L.** «Chapitre 36-Maladies de la peau», dans Périculture et pédiatrie ,7ème édition 2007, pages 833-867.

38 - **S. BAYLISS MALLORY, G LORETTE et al .**Dermatologie pédiatrique. Atlas en dermatologie. Elsevier Masson 2007.pages : 78-83/ 121-143/ 327-337.

39 - **Bernard A. Cohen.** Dermatologie pédiatrique. Edition Med'Com 2007. Pages : 121-127.

40 - **P. Modiano, P. Gosset et al.** Verrues du pied de l'enfant.Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 22, Issues 4–5, July–August 2009, Pages 157-166

41 - **F. Boralevi.** Condylomes de l'enfant. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 131, Issue 10, October 2004, Pages 913-919

42 - **F. Bouscarat, F. Pelletier, et al.**17 - Condylomes anogénitaux (ou verrues génitales). Les infections sexuellement transmissibles (1e édition), 2009, Pages 106-115.

43- EMC-Maladies Infectieuses 1 (2004) 235–261.

44- **S. Douvier, S. Dalac.** Infections à papillomavirus. EMC - Maladies Infectieuses, Volume 1, Issue 4, November 2004, Pages 235-261.

45 - **Chevalier J, Yi J, Mickel O, Tang XM.** Biotin and digoxigenin as labels for light and electron microscopy in situ hybrid- ization probes: where do we stand? J Histochem Cytochem 1997;45:481–91.

- 46 - **Weissenbacher ER, Schneider A, Gissmann L, Gross G, Heinrich J, Hillemanns P, et al.** Recommendations for the diagnosis and treatment of HPV infections of the femal tract. Eur J Infect Immunol Dis Obstet.
- 47 - **R.Laurent.** Herpès.Encycl Méd Chir (Elsevier Paris), Dermatologie, 98-290-A-10,. 2002, 11 p.
- 48 - **Taïeb A, Diris N, Boralevi F, Labrèze C.** Herpès cutanéomuqueux : particularités chez l'enfant. Clinique, valeur diagnostique de laclinique. Ann Dermatol Venereol. . 2002;129:603-8.
- 49 - **Bouscarat F, Descamps V,.** Herpès cutanéomuqueux. Revue dupraticien 1996, 46, P=1877-1885.
- 50 - **S. Cardine, PA. Chaze, F. Bourcier et al.** Nécrose rétinienne aigue bilatérale associée à une méningo-encéphalite à Herpès simplex virus 2. Journal Français d'ophtalmologie 2004; 27,7, 795-800.
- 51- **E. Frobort, D. Thouvenot, B.Lina, F.Morfin.** Détection par génotypage de la résistance des virus herpes simplex à l'aciclovir. Pathologie biologie 55 (2007) 504-511.
- 52 - **Pr. J. Colin, Pr. S. Billaudel, Dr. C. Fardeau.** Infection à HSV et VZV en ophtalmologie [http://www. Tni. Ikonos. Fr.](http://www.Tni.Ikonos.Fr)
- 53 - **CEDEF.** [Item 84--Herpesvirus infections in the child and the immunocompetent adult: chickenpox and shingles]. Ann Dermatol Venereol. . 2012;139:A22-8.

54 - **D. Floret** .La varicelle de l'enfant immunocompétent: complications et facteurs de risque. Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 28, Issue 11, November 1998, Pages 775-781

55 - **V. Lethel, J. Mancini**. Le zona de l'enfant .Journal de Pédiatrie et de Puériculture, Volume 15, Issue 3, May 2002, Pages 131-136

56 - **A Banerjee**. Zona de l'enfant. Archives de Pédiatrie, Volume 5, Issue 2, February 1998, Pages 199-203.

57 - **Carole Émile**.Virus herpès et biologie moléculaire .Option/Bio, Volume 19, Issue 397, March 2008, Pages 16-17

58 - **Wald, A., et al.,.** Polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus (HSV) DNA on mucosal surfaces: comparison with HSV isolation in cell culture. J Infect Dis, . 2003.188(9): p. 1345-51.

59 - **Johan Chanal**. 55 - Manifestation cutanée de l'infection VIH Dermatologie infectieuse, 2014, Pages 301-306

60 - **M. Janier, O. Zehou, E. Caumes** .Manifestations dermatologiques de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine .EMC, Maladies infectieuses,[8-050-D-20] 2013.

61 - **Lamoril, M. Bogard,et al**. Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007: Les applications et leur avenir – Partie 2Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 22, Issue 2, April 2007, Pages 73-94.

- 62 - **N. Akhdari, K. Zouhair, et al.** Tuberculose cutanée de l'enfant au Maroc : étude de 30. Archives de Pédiatrie, Volume 13, Issue 8, August 2006, Pages 1098-1101
- 63 - **Amel Mebazaa, Mourad Mokni** .24 - Tuberculose cutanée. Dermatologie infectieuse, 2014, Pages 107-116
- 64- **Zouhair K, Akhdari N, Nejjam F, et al.** Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose cutanée à Casablanca. Ann Dermatol Venereol 2001;128(Suppl 1):48.
- 65 - **G. Frémont, E. Bourrat, E. Mahé, B. Flageul.** Lèpre de l'enfant : un diagnostic à ne pas méconnaître. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 137, Issue 5, May 2010, Pages 359-363
- 66 - **O.M.S.** La lepre de l'enfant. Organisation Mondiale de la Santé, Genève (1976), ISBN: 92 4 254053 6. Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 7, Issue 2, 1977, Page 72
- 67 - **Barbara F. Hauler, Jacques Cherpillod, et al.** La lymphadénite à mycobactérie atypique. Rev Med Suisse 2008;2098-2102.
- 68 - **Roux V, Rolain JM.** Identification des bactéries par biologie moléculaire. EMC - Maladies infectieuses 2014;11(1):1-11.
- 69 - **Hélène Koenig, Christine Ball, Lionel Donato** .Mycoses de l'enfant Pédiatrie EMC- Maladies infectieuses[4-313-A-10] 2001.

- 70 - **N. Fekih, H. Aounallah-Skhiri, et al.** Les mycoses de l'enfant : étude transversale à propos de 240 patients. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 138, Issue 12, Supplement, December 2011, Page A159
- 71- - **G. Lorette, M. Rybojad.** «Chapitre 12 - Dermatologie», dans Pédiatrie (6e édition), 2011, Pages 227-28.
- 72 - **Wolkenstein P, Zeller J et Ismaïli N.** Neurofibromatoses. EMC(Elsevier SAS, Paris), Dermatologie, 98-755-A-10,Pédiatrie, 4-092-C-10, 2002, 10 p.
- 73 - **Valeyrie-Allanore L., Wolkenstein P.** Neurofibromatose 1 et formes variantes. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Neurologie,17-170-A-65, 2009.
- 74 - **Heim R.A., et al.** 1995. Distribution of 13 truncating mutations in the neurofibromatosis 1 gene. Hum Mol Genet 4 : 975-981.
- 75 - **S. Pinson, P. Wolkenstein.** La neurofibromatose 1 (NF1) ou maladie de Von Recklinghausen. La Revue de Médecine Interne, Volume 26, Issue 3, March 2005, Pages 196-215
- 76 - **P. Wolkenstein.** Neurofibromatoses et sclérose tubéreuse de bourneville .Journal of Neuroradiology, Volume 32, Issue 3, June 2005, Pages 174-179
- 77 - **A. Drouet, F. Le Moigne, D. Salamé,et al.** Neurofibromatose de type 2 : différence inter-générationnelle d'expression génétique et clinique. Archives de Pédiatrie, Volume 21, Issue 11, November 2014, Pages 1233-1240
- 78 - **Ballanger F., Quéreux G.,et al.** Sclérose tubéreuse de Bourneville. EMC(Elsevier SAS, Paris), Dermatologie, 98-760-A-10, 2005.

- 79 - **A. Riquet, J.-M. Cuisset, et al.** Spécificités de la sclérose tubéreuse de Bourneville chez l'enfant. Archives de Pédiatrie, Volume 17, Issue 9, September 2010, Pages 1338-1345.
- 80 - **Dereure O.** Génétique moléculaire en dermatologie. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Dermatologie,98-110-A-15, 2006.
- 81 - **C. Bodemer, S. Hadj-Rabia.** Incontinentia pigmenti. Dermatologie et infections sexuellement transmissibles,5e édition Tsunami, 2009, Pages 497-501.
- 82 - **B Ponties Le Roux, G Hornez, et al.** Incontinentia pigmenti. Archives de Pédiatrie, Volume 3, Issue 2, February 1996, Pages 152-155.
- 83 - **S. Nouri-Merchaoui, N. Mahdhaoui, et al.** Convulsions néonatales révélant une incontinentia pigmenti. Archives de Pédiatrie, Volume 18, Issue 10, October 2011, Pages 1095-1099.
- 84 - **Redouani-Kherbaoui L, Goizet C et Léauté-Labrèze C.** Incontinentia Pigmenti. Encycl Med Chir (Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris), Dermatologie, 98-260-A-10, 2003, 6p.
- 85 - **Nouri-Merchaoui S et al.** Convulsions néonatales révélant une IP. Arch pediatri 2001; 18: 1095-1099.
- 86 - **A. Yasmine Kirkorian, Bernard Cohen.** «Chapter 83 - Incontinentia Pigmenti» .Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease (Fifth Edition), 2015, Pages 963-969.

87 - **D. Wallach**. 16 - Éléments de dermatologie pédiatrique. Guide pratique de dermatologie (3e édition), 2007, Pages 301-320.

88 - **M. Battistella, sous l'égide du groupe d'histopathologie cutanée de la SFD**. Dermatoses bulleuses jonctionnelles. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 138, Issue 5, May 2011, Pages 447-450.

89 - **S Ingen-Housz-Oro, C Blanchet-Bardon**. Épidermolyses bulleuses héréditaires. EMC - Dermatologie-Cosmétologie, Volume 1, Issue 1, February 2004, Pages 2-18.

90 - **Léauté-Labrèze C**. Dermatologie pédiatrique. EMC (Elsevier SAS, Paris), Traité de Médecine Akos, 2-0800,2006.

91 - **F. Boralevi**. Quoi de neuf en dermatologie pédiatrique en 2010 ?. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 137, Supplement 4, December 2010, Pages S145-S157.

92 - **Rodríguez-Pazos L, et al**. Ictiosis congénitas autosómicas recesivas. Actas Dermosifiliogr. 2013;104:270-84.

93 - **Lorette G**. Xérose, ichtyose, kératose pilaire. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Cosmétologie et Dermatologie esthétique, 50-220-D-10, 2001, 3 p.

94 - **C. Chiavérini, SFD**. Ichtyoses génétiques. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 136, Issue 12, December 2009, Pages 923-934.

95 - **D. Hohl**. Ichtyoses. Dermatologie et infections sexuellement transmissibles. 5e édition ;2009 ;pages :238-246.

96 - **Zghal M, Fazaa B, Abdelhak S, Mokni M**. Xeroderma pigmentosum. EMC-Dermatologie 2014;9(3):1-13[Article98-660-A-10].

97 - **A. Stary, A. Sarasin**. The genetics of the hereditary xeroderma pigmentosum. Biochimie, Volume 84, Issue 1, January 2002, Pages 49-60.

98 - **M. Ben Rekaya, N. Laroussi, et al**. Développement d'un test de diagnostic moléculaire simple pour le diagnostic moléculaire de Xeroderma pigmentosum de type variant. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, Volume 141, Issues 6–7, Supplement 2, June 2014, Page S86.

99 - **Kenneth H Kraemer, MD and John J DiGiovanna, MD**. Xeroderma Pigmentosum. GeneReviews. 2012.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- * Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- * Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité, la santé de mes malades sera mon premier but.*
- * Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- * Je maintiendrai, par tous les moyens en mon pouvoir, honneur et les mobiles traditions de la profession médicale.*
- * Les médecins seront mes frères.*
- * Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'imposera entre mon devoir et mon patient.*
- * Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- * Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances, médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- * Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

*Déclaration de Genève,
1948*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمان الرحيم أقسم بالله العظيم

- في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:
- بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية؛
 - وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه؛
 - وأن أمارس مهنتي بوازع من ضميري وشرفي جاعلا صحة مريضي هدفي الأول؛
 - وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي؛
 - وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب؛
 - وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي؛
 - وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي؛
 - وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها؛
 - وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد؛
 - بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسم بشرفي.
- والله على ما أقول شهيد.

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم : 139

سنة : 2015

البيولوجيا الجزيئية وتشخيص الأمراض الجلدية.

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :
من طرف

السيدة : نهى مورصي
المزداة في 20 أكتوبر 1988 بوزان

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية : البيولوجيا الجزيئية - الأمراض الجلدية - طفل - تشخيص جزيئي.
تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة:

رئيس	السيد : عبد العالي بنتهيلة أستاذ في طب الأطفال
مشرف	السيدة : فاطمة جابوريك أستاذة مبرزة في طب الأطفال
مساعد مشرف	السيدة : ماجدولين بوجوال أستاذة في طب النساء و التوليد
أعضاء	السيدة : فاطمة منصوري أستاذة في علم التشريخ الدقيق
	السيدة : سكيئة الحمزاوي أستاذة في علم الأحياء الدقيقة