

ANALYSE DU PROFIL IMMUNOSÉROLOGIQUE DES MALADIES CUTANÉES AUTO-IMMUNES (RÉFÉRENCE – 2013.03.003)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHUM
- 1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 11 avril 2013
- 1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Analyse du profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes par immunofluorescence indirecte sur substrats spécifiques et ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) en microplaque.

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

L'analyse immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes consiste à rechercher la présence d'autoanticorps sériques dirigés contre des constituants protéiniques de la peau. Deux méthodes sont incluses dans la requête du demandeur :

Immunofluorescence indirecte sur une mosaïque de six substrats (BIOCHIP Mosaïcs™ de la compagnie EUROIMMUN)¹ : œsophage de primate, peau humaine traitée par une solution

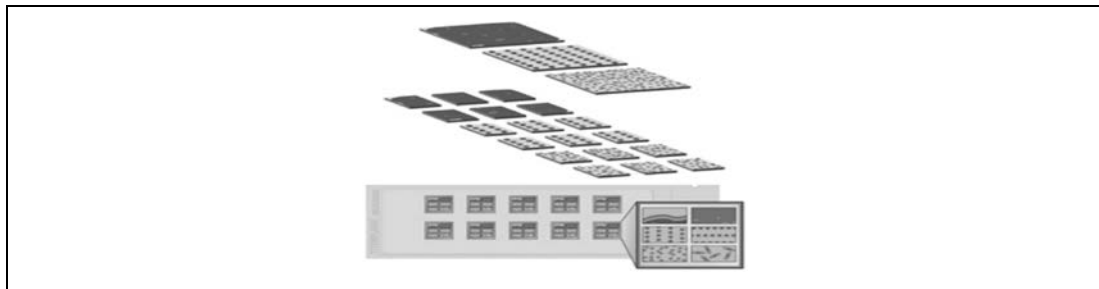
1. EUROIMMUN. Autoantibodies against antigens of the skin [site Web]. Disponible à : http://www.euroimmun.de/index.php?id=aak_gegen_antikoerper_der_haut&L=1 (consulté le 21 novembre 2013).

de NaCl, cellules exprimant les desmoglénines 1 et 3, la BP230² (globulaire domaine C-terminal) et la BP180 (figure 1). Chaque substrat est dans une biopuce³ disponible pour une analyse simultanée.

La technique consiste à mettre en contact le sérum (dilué à 1/10) avec les substrats. Les autoanticorps présents se fixent au déterminant antigénique de la protéine visée. Le complexe antigène-anticorps est révélé par un anticorps (IgG) marqué au fluorochrome, l'isothiocyanate de fluorescéine, et visualisé à l'aide d'un microscope à fluorescence conventionnel.

Les anticorps antistabstance intercellulaire dirigés contre les desmoglénines 1 et 3 réagissent avec les antigènes de surface des kératinocytes. L'analyse de la section tissulaire de l'œsophage montre une fluorescence granulaire. La différenciation entre les desmoglénines 1 et 3 étant difficile, les cellules spécifiques transfectées sont utilisées pour permettre un diagnostic précis. Lorsque les autoanticorps dirigés contre la BP180 ou la BP230 sont présents, une fluorescence du côté de l'épiderme sera observée sur l'échantillon de peau divisée à la jonction dermo-épidermale par une solution de sel. À l'œsophage, la membrane basale épidermique est visible sous forme d'une coloration linéaire entre la couche basale et le tissu conjonctif. Ces anticorps peuvent être différenciés au moyen de biopuces enduites de BP180-NC16A-4X et de cellules transfectées spécifiquement avec le BP230 (globulaire domaine C-terminal) [EUROIMMUN, 2014].

Figure 1 Mosaïque biopuce (BIOCHIP mosaic)



Source : Zarian *et al.*, 2012. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

Méthode ELISA en microplaque pour la détection spécifique des autoanticorps : différentes troupes ELISA correspondant à 5 antigènes recombinants sont disponibles pour une analyse quantitative des protéines ciblées, à l'exception de l'envoplakine pour laquelle l'analyse est semi-quantitative (caractérisation des autoanticorps ou identification des épitopes cibles). Ces antigènes sont : domaine extracellulaire de la desmoglénine 1 ou 3, envoplakine, tétramère du domaine NC16A de la BP180 (BP180-NC16A-4X), segment C-terminal de la BP230 (BP230-CF).

La méthode ELISA comprend une microplaque avec 8 puits individuels de réactifs. La détection d'anticorps monospécifiques est réalisée en plusieurs étapes : 1) dilution du sérum au 1:100; 2) incubation avec l'antigène recombinant sur le support solide; 3) incubation avec un conjugué (anticorps monoclonal anti-IgG humain) couplé à la peroxydase. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps IgG, IgA et IgM spécifiques se lieront au site antigénique correspondant. Les résultats quantitatifs exprimés en U/ml sont

2. BP pour *Bullous Pemphigoid*.

3. Une biopuce est un outil d'analyse et de diagnostic d'environ 1 cm². Elle se présente sous la forme d'un support en verre ou en silicium sur lequel sont fixées des protéines. (Lexique d'Universcience [site Web]. Disponible à : <http://www.universcience.fr/fr/lexique/definition/c/1248117915087/-/p/1239022830869/>).

obtenus par la mesure spectrophotométrique de l'intensité de la réaction colorimétrique [EUROIMMUN, 2014]. D'autres trousse de la compagnie japonaise Medical & Biological Laboratories (MBL) sont disponibles.

2.3 Société ou développeur

La compagnie EUROIMMUN (Medizinische Labordiagnostika AG) (Allemagne).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Les trousse ELISA (IgG) de la compagnie EUROIMMUN sont homologuées par Santé Canada : antidesmoglénine 1 (n° 82882); antidesmoglénine 3 (n° 82881); anti-envoplakine (n° 91661); anti-BP180-NC16A-4X (n° 74292); anti-BP230-CF (n° 91721).

L'IIFT : Dermatology Mosaic 7 (EUROIMMUN) a reçu l'homologation de Santé Canada en juillet 2013 (n° 91721).

La FDA a approuvé les trousse ELISA (IgG) par technique semi-quantitative pour les anti-BP180 et anti-BP230 de la MBL International Corporation (k071961⁴); par technique qualitative ou semi-quantitative pour l'anti-BP180-4X ELISA (IgG) d'EUROIMMUN US Inc. (k083615⁵) et par technique semi-quantitative ou qualitative pour le dosage des antidesmoglénines 1 et 3 (IgG) d'EUROIMMUN US Inc. (k091969⁶). Nous n'avons pas trouvé d'approbation pour la trousse Dermatology Mosaic 7 (EUROIMMUN).

2.7 Valeur pondérée : 148

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Patients atteints de maladies bulleuses auto-immunes et pris en charge en onco-dermatologie.

3.2 Description des maladies visées

Les maladies bulleuses auto-immunes acquises représentent un groupe hétérogène de maladies rares dues à une atteinte de la peau ou des muqueuses externes en raison de la production d'autoanticorps dirigés contre les antigènes de surface des kératinocytes dont les composantes des desmosomes⁷ (anti-substance intercellulaire) et d'autres antigènes ne faisant pas partie des complexes de jonction [Grando, 2012]. Ces autoanticorps sont responsables de la perte de la structure intercellulaire par acantholyse (ou perte d'adhésion des cellules dans la peau⁸) et de la formation de bulles intraépidermiques (pemphigus). Les autoanticorps peuvent être dirigés contre la jonction dermo-épidermique

4. Food and Drug Administration (FDA). 510(k) Substantial equivalence determination decision summary. 510(k) Number: k071961. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K071961.pdf.

5. 510(k) Number: k083615. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K083615.pdf.

6. 510(k) Number: k091969. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K091969.pdf.

7. Desmosome : protéine permettant l'adhésion intercellulaire et assurant la jonction interkératinocytaire.

8. Deux principaux isoformes sont ciblés : desmoglénine 1 exprimée surtout dans l'épithélium superficiel et moins dans la muqueuse orale; desmoglénine 3 exprimée surtout dans l'épithélium de la muqueuse orale et la couche suprabasale de l'épiderme.

(antimembrane basale) causant une altération de l'un de ses constituants (hémidesmosomes, filaments d'ancrage) et la formation de bulles sous-épidermiques (pemphigoïde bulleuse). Différents antigènes (protéines) sont associés à plusieurs formes cliniques [HAS, 2011b; Humbel, 2003] :

- pemphigus foliacé : desmogléine 1;
- pemphigus vulgaire : desmogléines 1 et 3;
- pemphigus paranéoplasique : plakines (desmoplakines 1 et 2, envoplakine et périplakine), desmogléines 1 et 3, BPAG1⁹, plectine (HD1);
- pemphigoïde bulleuse : BPAG1 et BPAG 2;
- pemphigoïde cicatricielle : BPAG1 et BPAG 2, LABD¹⁰ Antigen 1, intégrine, laminine 5, collagène VII;
- dermatose bulleuse à IgA linéaire : BPAG1 ou BPAG2, LABD, collagène VII;
- pemphigus à IgA : desmocollines 1 et 2;
- pemphigoïde *gestationis* ou *Herpes gestationis* : BPAG2, BP180-NC16A;
- épidermolyse bulleuse acquise : collagène XVII.

La pemphigoïde bulleuse est la forme clinique la plus fréquente¹¹. L'incidence est de 43 cas par million d'habitants par année au Royaume-Uni et de 7 à 13 cas par million d'habitants par année dans les autres parties de l'Europe [Venning *et al.*, 2012]. Elle atteint les personnes âgées de 70 ans et plus et se manifeste dans sa forme classique par du prurit, de l'érythème et la formation de bulles sans atteinte des muqueuses et sans signe de Nikolsky¹². Les formes atypiques s'accompagnent d'une atteinte des muqueuses, notamment au niveau buccal [HAS, 2011a]. Elles sont associées à une morbidité importante (p. ex. démangeaisons graves et impétiginisation¹³) qui compromet la qualité de vie. Les taux de mortalité à 1 an rapportés dans quatre études recensées par Schmidt et ses collègues [2012] varient entre 19 % et 29 %.

La pemphigoïde de la grossesse est une forme rare qui survient aux deuxième et troisième trimestres de la gestation, associant prurit intense, urticaire et vésicules bulleuses débutant au niveau du ventre [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011].

Le pemphigus est une maladie plus rare, et son incidence varie, selon la littérature, de 1 à 16 nouveaux cas par million d'habitants par année [Joly et Sin, 2011]. La forme connue comme pemphigus vulgaire présente une atteinte des muqueuses (érosions buccales surtout) et cutanée tardive (éruption bulleuse) avec signe de Nikolsky positif lorsque l'atteinte est profonde. Les séquelles, dues notamment à l'atteinte cutanée, ophtalmologique et buccale et aux effets secondaires du traitement immunosuppresseur, sont irréversibles. En l'absence d'atteinte des muqueuses, on parle de pemphigus superficiel ou foliacé [HAS, 2011b].

Le pemphigus paranéoplasique est la forme la plus grave associée à d'autres maladies

9. BPAG1 : Bullous Pemphigoid Antigen 1.

10. LABD : dermatose bulleuse à IgA linéaire ou Linear IgA bullous dermatosis

11. Bernard P. Pemphigoïde bulleuse [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=703 (consulté le 24 janvier 2014).

12 Le signe de Nikolsky correspond à un décollement cutané provoqué par le frottement appuyé de la peau saine. Il traduit un décollement intraépidermique (acantholyse) au cours des pemphigus. (Collège National des Enseignants de Dermatologie. Item 116 : Dermatoses bulleuses auto-immunes. Disponible à : http://umvf.univ-nantes.fr/dermatologie/enseignement/dermato_45/site/html/cours.pdf).

13. Surinfection microbienne ressemblant à un impétigo sur une affection cutanée qui n'était pas initialement infectée, telle qu'un eczéma.

néoplasiques, surtout lymphoprolifératives [Humbel, 2003]. Il est extrêmement rare et sa prévalence est inconnue¹⁴.

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur estime à environ 100 patients par année le volume provincial attendu pour les trois prochaines années.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Dermato-oncologie et hémato-immunologie.

3.5 Modalités d'administration du test

Le prélèvement sanguin est effectué dans un centre de prélèvement à l'aide d'une ponction veineuse.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Actuellement, deux examens sont disponibles pour confirmer le diagnostic de pemphigus ou de pemphigoïde bulleuse : l'examen histologique sur prélèvement cutané d'une bulle intacte et l'immunofluorescence directe sur biopsie cutanée. L'examen histologique permet de préciser la localisation épidermique des bulles [Joly *et al.*, 2011; Humbel, 2003]. L'immunofluorescence directe de la zone péribulleuse met en évidence des dépôts linéaires d'IgG et de fraction du complément C3 le long de la jonction dermo-épidermique avec un aspect fluorescent linéaire (pemphigoïde bulleuse) ou à la surface des kératinocytes avec une fluorescence en nid d'abeille de l'épithélium (pemphigus) [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011; Joly *et al.*, 2011].

La détection sérique des autoanticorps anticutanés par immunofluorescence indirecte, utilisant comme substrat l'œsophage de singe ou la peau humaine traitée avec du NaCl, a été pendant longtemps la méthode de référence [Tampoia *et al.*, 2012a]. Cette technique permet de détecter la présence d'anticorps anti-membrane basale de l'épithélium malpighien (anti-ZMB) avec une fluorescence linéaire (pemphigoïde bulleuse) et les anticorps antistance intercellulaire (anti-SIC) de l'épithélium malpighien avec une fluorescence en nid d'abeille de l'épithélium (pemphigus) [Humbel, 2003]. Selon certains auteurs, ces procédés sont difficiles à standardiser et ils dépendent des compétences du manipulateur [Charneux *et al.*, 2011].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La mosaïque BIOCHIP constitue un spectre antigénique complet disponible en une seule analyse et permettant d'établir la différence entre les pemphigus vulgaire et foliacé.

L'ELISA est une technique simple et le résultat est obtenu en une journée, ce qui permet l'analyse d'un grand nombre d'échantillons en un temps relativement court [Lee *et al.*, 2012]. Elle donne des résultats quantitatifs et ne nécessite pas de personnel expérimenté [Atzori *et al.*, 2008].

14 Dubertret L. Pemphigus paranéoplasique [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=63455 (consulté le 24 janvier 2014).

Selon l'information tirée du formulaire soumis par le demandeur, la mosaïque BIOCHIP et la technique ELISA constituent une approche spécifique qui permet un diagnostic précis chez 90 % des patients.

4.4 Coût de la technologie et des options : n'a pas été analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Cette analyse pourrait remplacer la recherche d'anticorps antimembrane basale cutanée (pemphigoïde) (code 20700) et antistrat intracellulaire (pemphigus) cutané (code 20715) par immunofluorescence indirecte.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

L'analyse du profil immunosérologique permet de confirmer le diagnostic clinique des maladies cutanées auto-immunes par l'identification de l'antigène ciblé par les autoanticorps et de différencier différentes formes cliniques, notamment les pemphigus vulgaire ou foliacé et des formes atypiques de la pemphigoïde bulleuse.

Dans le cas du **pemphigus**, on rapporte une corrélation entre le profil immunologique des autoanticorps et le phénotype clinique. La présence d'antidesmoglérine 3 est spécifique à une atteinte des muqueuses et la présence des antidesmoglérines 1 et 3 est spécifique à une atteinte cutanéomuqueuse [Joly et Sin, 2011]. En outre, plus les taux des autoanticorps sont élevés, plus l'atteinte clinique est importante [HAS, 2011b; Joly et Sin, 2011].

Dans les stades précoces ou dans les formes atypiques, la **pemphigoïde bulleuse** peut être confondue avec une variété de dermatoses, y compris des réactions médicamenteuses localisées. Les critères cliniques et histopathologiques, et surtout le développement des méthodes immunologiques par ELISA, permettent le diagnostic sérologique chez la plupart des patients [Schmidt *et al.*, 2012].

Corrélation entre les titres d'antidesmoglérines 1 et 3 (par ELISA) et la gravité du pemphigus

Le degré d'extension de la maladie est évalué cliniquement par la gravité, le nombre et l'étendue des lésions cutanéomuqueuses, le nombre d'érosions, notamment au niveau oral, le nombre de vésicules apparues depuis le diagnostic ou l'intensité du prurit.

Pemphigus vulgaire

Dans le cas du pemphigus vulgaire, on observe dans la majorité des études une corrélation significative entre les taux des antidesmoglérines 1 et 3 et l'étendue ou l'activité de la maladie lorsque le diagnostic est établi (tableau 1).

Durant le suivi de l'évolution de la maladie, Belloni-Fortina et ses collaborateurs [2009] n'ont pas constaté de corrélation entre les titres d'antidesmoglérines 1 et 3 et l'étendue cutanéomuqueuse. En revanche, Herrero-González et ses collaborateurs [2010] ont montré une importante corrélation entre les taux d'antidesmoglérine 3 et un pronostic défavorable de la maladie (plusieurs poussées réfractaires, maladies chroniques) ($p < 0,001$), mais aucune association n'a été observée avec les niveaux d'anticorps antidesmoglérine 1 ($p =$ non disponible).

Dans une autre étude [Abasq *et al.*, 2009], on a observé une diminution des taux

d'antidesmogléine 1 (de 113,8 U/ml à 22,3 U/ml; $p < 001$) chez les patients atteints de pemphigus vulgaire avec des lésions cutanéomuqueuses en rémission complète de leurs lésions cutanées. La diminution des taux d'antidesmogléine 3 était de 148,4 U/mL à 99,4 U/ml à jour ($p < 001$) chez les patients en rémission complète de leurs lésions muqueuses. La diminution du taux d'antidesmogléine 3 était moins importante que celle de l'antidesmogléine 1 chez les patients avec pemphigus cutanéomuqueux ou foliacé (cutanée). Pour 11 patients atteints du pemphigus foliacé ou vulgaire avec lésions cutanéomuqueuses récidivantes, l'antidesmogléine 1 était significativement plus élevée ($p = 0,03$) pendant les rechutes que pendant les périodes de rémission. En revanche, aucune différence significative n'a été notée pour l'antidesmogléine 3 entre les périodes de rémission complète et les rechutes ($p = 0,13$) des lésions muqueuses du pemphigus vulgaire.

Tableau 1 Relation entre les titres d'antidesmogléines 1 et 3 par ELISA et la gravité de la maladie dans le cas du pemphigus vulgaire

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITE OU DE L'EXTENSION DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE		VALEUR DE P
			TYPE	RÉSULTAT	
Herrero-González <i>et al.</i> , 2010	Étendue des lésions cutanéomuqueuses	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Kruskal-Wallis	S. O.	< 0,001 < 0,001
Schmidt <i>et al.</i> , 2010	Nombre de lésions cutanéomuqueuses (PDAI ¹⁵)	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	NR	< 0,001 < 0,001
Belloni-Fortina <i>et al.</i> , 2009	Nombre de lésions au niveau des muqueuses	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	NR	0,001 0,006
	Étendue des lésions cutanées	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3			0,102 0,009
Daneshpazhooh <i>et al.</i> , 2007	Gravité de l'atteinte cutanée	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	0,746 0,382	< 0,001 < 0,001
	Nombre d'érosions au niveau oral	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3		- 0,245 0,295	< 0,036 < 0,011
Sharma <i>et al.</i> , 2006	Surface cutanée atteinte avec des vésicules, bulles ou érosions	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Pearson	0,429 0,217	0,026 0,278
	Nombre d'érosions au niveau oral	Anti-Dsg3	Test d'ANOVA	S. O.	0,039

Abréviations : Dsg : desmogléine; S. O. : sans objet; NR : non rapporté.

Avgerinou et ses collaborateurs [2013] ont rapporté la variation médiane des titres d'antidesmogléine 1 et 3 entre le début du traitement et 12 mois après chez 40 patients atteints de pemphigus vulgaire. Ils ont observé une diminution significative des titres d'antidesmogléine 1 (140,82 à 31,56; $p = 0,003$) et d'antidesmogléine 3 (de 178,08 à 126,43; $p = 0,009$) chez 25 patients qui ont eu une amélioration clinique. Chez les 7 patients qui ont eu une aggravation clinique les titres d'antidesmogléine 1 n'ont pas changé de façon significative alors que l'antidesmogléine 3 est passée de 176,70 à 245,92; $p = 0,028$. Aucun changement

15. PDAI (pemphigus disease area index) : score 3 : > 3 lésions, score 2 : 2-3 lésions; score 1 : 1 lésion; score 0 : pas de lésion.

n'a été observé chez les 8 patients dont la condition clinique était stable. Les auteurs concluent que les antidesmoglénines 1 et 3 peuvent être utiles pour le suivi clinique du pemphigus vulgaire et pour guider la prise en charge thérapeutique.

Pemphigus foliacé

Deux études ont présenté des résultats divergents (tableau 2). Bien qu'une corrélation entre les taux d'antidesmoglénine 1 et l'étendue de l'atteinte cutanée a été rapportée pour un petit nombre de patients (n = 5) dans une étude [Schmidt *et al.*, 2010], l'absence de corrélation a été observée par Herrero-González et ses collaborateurs [2010] qui soulignent que la petite taille de l'échantillon (n = 7) pourrait être en cause.

Tableau 2 Relation entre les titres d'antidesmoglénine1 par ELISA et la gravité de la maladie dans le cas du pemphigus foliacé

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITE OU DE L'EXTENSION DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE	COEFFICIENT	VALEUR DE P
Herrero-González <i>et al.</i> , 2010	Étendue des lésions cutanées	Anti-Dsg1	Kruskal-Wallis	S. O.	0,091
Schmidt <i>et al.</i> , 2010	Nombre de lésions cutanées	Anti-Dsg1	Spearman	NR	< 0,001

Abréviations : Dsg : desmoglénine; S. O. : sans objet; NR : non rapporté.

Abasq et ses collaborateurs [2009] rapportent une diminution significative du taux d'antidesmoglénine 1 de 123,8 U/ml à 76,8 U /ml (p = 0,03) chez les patients atteints de pemphigus foliacé en rémission complète de leurs lésions cutanées, après un traitement initial et un suivi de 90 jours.

Corrélation entre les titres d'anti-BP180 et anti-BP230 par ELISA et la gravité de la pemphigoïde bulleuse

L'anti-BP180 est significativement associé avec l'activité et la gravité de la pemphigoïde bulleuse (tableau 3) et recommandé pour la surveillance de l'évolution de la maladie.

L'anti-BP180 à un titre ≥ 27 UI/ml est un bon indicateur de rechute clinique durant l'année qui suit l'arrêt du traitement, avec une valeur prédictive positive de 90,9 % et une valeur prédictive négative de 51,2 % [Bernard *et al.*, 2009].

Une étude a rapporté des valeurs d'anti-BP180 significativement plus basses durant le suivi des patients sans récives (p = 0,03) [Le Saché-de Peufelhox *et al.*, 2012]. L'intérêt de l'anti-BP230 n'est pas démontré dans les cas typiques de la pemphigoïde bulleuse [Le Saché-de Peufelhox *et al.*, 2012].

Corrélation entre la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et les titres d'antidesmoglénines 1 et 3 par ELISA

Van Beek et ses collaborateurs [2012] ont rapporté pour 9 patients (3 cas de pemphigoïde bulleuse; 3 de pemphigus foliacé; 3 de pemphigus vulgaire) une corrélation entre les titres d'anti-BP180 et d'antidesmoglénines 1 et 3, mesurés par les deux méthodes (mosaïque

BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et ELISA) et l'activité de la maladie¹⁶ durant le suivi. Les auteurs concluent que, pour la surveillance des titres d'autoanticorps, l'ELISA semble plus appropriée.

Tableau 3 Relation entre les titres d'anti-BP180 et anti-BP230 par méthode ELISA et la gravité de la pemphigoïde bulleuse

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITÉ DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE	COEFFICIENT	VALEUR DE P
Lee <i>et al.</i> , 2012	Score d'activité de la maladie*	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,45 0,002	0,002 0,99
	Gravité de la maladie selon score (légère, modérée, grave)	Anti-BP180 Anti-BP230	Wilcoxon rank-sum test	S. O.	0,006 0,54
	Intensité du prurit	Anti-BP180 Anti-BP230			0,04 0,56
Patsatsi <i>et al.</i> , 2012	BPDAI ¹⁷ BPDAI (intensité du prurit) ABSIS ¹⁸	Anti-BP180	Pearson Spearman Pearson	0,557 0,530 0,570	< 0,0001 0,001 < 0,0001
	BPDAI BPDAI (intensité du prurit) ABSIS	Anti-BP230	Spearman	0,206 0,192 0,245	0,208 0,242 0
Charneux <i>et al.</i> , 2011	Nombre de nouvelles vésicules	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,37 -0,06	< 0,001 0,51
Roussel <i>et al.</i> , 2011	Nombre de nouvelles bulles développées par jour	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,44 0,16	< 0,001 0,03
Tampoia <i>et al.</i> , 2009	Nombre de nouvelles bulles développées sur deux jours consécutifs	Anti-BP180	Non décrit	0,616	0,0042
Feng <i>et al.</i> , 2008	Nombre de bulles, érythème, érosion, % d'atteinte cutanée	Anti-BP180	Spearman	0,609	0,006

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; S. O. : sans objet.

*Score calculé en fonction de l'étendue de la maladie et de l'intensité du traitement.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Des recommandations pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse, publiées en France par Bernard et ses collaborateurs [2011], suggèrent de vérifier l'absence de titres d'anticorps anti-PB180 supérieurs à 27 UI, par ELISA, avant d'arrêter le traitement. Des recommandations pour le diagnostic et la prise en charge du pemphigus, publiées en France par Joly et ses collaborateurs [2011], indiquent que, avant l'arrêt du traitement, il

16. Score 4 : > 10 lésions; score 3 : 4 à 10 lésions; score : 2, 1 à 3 lésions; score 1 : rémission clinique sur thérapie immunosuppressive; score 0 : rémission clinique sans thérapie immunosuppressive.

17. Score BPDAI (*BP Disease Area Index*) (de 0 à 120) : nombre et taille des lésions bulleuses, nombre et taille des lésions érythémateuses non bulleuses, nombre et taille des lésions muqueuses. Score BPDAI (intensité du prurit) (de 0 à 30) : évaluation de la sévérité du prurit durant les 24 dernières heures (de 0 à 10), les semaines précédentes (de 0 à 10), le mois passé (de 0 à 10).

18. Score ABSIS (*Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity*) (de 0 à 206) : étendue et qualité des lésions cutanées.

faudrait vérifier l'absence ou la présence d'un taux inférieur à 1/20 d'anticorps circulant par IFI et qu'il est également recommandé de vérifier l'absence de titres élevés d'antidesmogléine 1 par ELISA. Ces anticorps sont prédictifs de la rechute cutanée [Joly *et al.*, 2011].

5.2 Validité clinique

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (LR)	x		
Courbe ROC	x		
Exactitude			

5.2.1 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte dans le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse et des pemphigus vulgaire et foliacé

Pemphigoïde bulleuse

Quatre études¹⁹ récentes ont été repérées (tableaux 4 et 5). La mosaïque BIOCHIP permet la détection du domaine NC16A de la protéine BP180, qui est la cible majoritaire des anticorps présents dans le sérum des patients atteints de pemphigoïde bulleuse, avec une sensibilité de 83,3 à 100 % et une spécificité de 96,5 à 100 %. Pour la détection du domaine globulaire C-terminal du BP230, la mosaïque BIOCHIP a une sensibilité entre 38 et 54,8 % et une spécificité entre 98 et 100 %.

Pemphigus vulgaire

Dans le cas du pemphigus vulgaire, les anticorps sont dirigés contre les desmogléines 1 et 3. Ainsi, les antidesmogléines 1 et 3 permettent de différencier les cas de pemphigus vulgaire et foliacé. Les résultats de la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte le confirment, puisque dans le cas du pemphigus vulgaire, l'antidesmogléine 3 est détectée chez 98,5 % à 100 % des cas avec une spécificité entre 99,6 % et 100 % alors que l'antidesmogléine 1 a une sensibilité entre 33,3 et 52,3 % avec une spécificité entre 98,5 et 100 %.

Pemphigus foliacé

Dans le pemphigus foliacé, la desmogléine 1 est la seule cible des anticorps. Elle est présente dans 90 % cas avec une spécificité de 100 %.

Selon certains auteurs [Tampoia *et al.*, 2012b; Van Beek *et al.*, 2012], la mosaïque BIOCHIP révèle une sensibilité et une spécificité élevées comparables aux résultats publiés par d'autres études utilisant les approches conventionnelles avec ELISA dans le cas de la pemphigoïde bulleuse et du pemphigus vulgaire et foliacé. Ils concluent que la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence présente une bonne performance pour le diagnostic de la maladie cutanée auto-immune bulleuse. Elle est aussi une méthode simple d'exécution et permet d'obtenir des résultats avec plusieurs substrats en une seule incubation. Elle serait

19. Les auteurs de deux de ces études ont des intérêts dans la compagnie EUROIMMUN [Van Beek *et al.*, 2012 et Damoiseaux *et al.*, 2012].

également peu coûteuse par rapport à l'ELISA, même si aucune analyse des coûts n'ait été publiée. Toutefois, il est important de souligner que les résultats, quoique similaires à ceux obtenus par ELISA, présentent une faible sensibilité dans certains cas et qu'ils sont de nature qualitative. Des résultats quantitatifs par ELISA demeurent nécessaires, notamment pour les cas douteux.

Tableau 4 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP (EUROIMMUN) par immunofluorescence indirecte pour la détection de l'anti-BP180 et 230 pour le diagnostic de la pemphigïde bulleuse

ÉTUDE	PATIENTS (N)	GROUPE TÉMOIN (N)	AUTOANTICORPS	SE % (N/N)	SP %	RV	
						+	-
Damoiseaux <i>et al.</i> , 2012	60	MAIC (22)* autres MIC (35) †	Anti-BP180 NC16A Anti-BP230gcHEK293	88 (53/60) 38 (23/60)	96,5 98	25,2 22,5	0,12 0,63
Zarian <i>et al.</i> , 2012	18	VS (3) pemphigus vulgaire (2)	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230-gC	83,3 (15/18) 39 (7/18)	100 100	n.d.	n.d.
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	42	VS (100) Autres MCNI (97) ‡	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230-gC	100 (42/42) 54,8 (23/42)	98,2 100	n.d.	n.d.
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	40	VS(40) Autres MC (54) §	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230	90 40	100 100	n.d.	n.d.

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; MAIC: maladies auto-immunes cutanées; MC : maladies cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; MIC : maladies inflammatoires cutanées; N : nombre total de patients; n : nombre de patients analysés; n.d. : non disponible; RV : rapport de vraisemblance (*likelihood ratio*); Se : sensibilité; Sp : spécificité; VS : volontaires sains.

*MAIC : *pemphigus vulgaris*/foliacé (8); lupus érythémateux cutané subaigu ou chronique (5); vascularite (4); psoriasis (2); dermatose à IgA (1); dermatite herpétiforme (2).

†MIC (35) : eczéma (11); prurigo (6); érythème (3); autres manifestations cutanées diverses (15).

‡ MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire, le carcinome basocellulaire et le carcinome squameux cellulaire.

§ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

|| Il s'agit de la molécule entière et du domaine C terminal de l'anti-BP230.

Tableau 5 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP (EUROIMMUN) pour la détection des antidesmoglénines 1 et 3 pour le diagnostic du pemphigus vulgaire et foliacé

ÉTUDE	PATIENTS (N)	GROUPE TÉMOIN (N)	AUTOANTICORPS	SE % (N/N)	SP %
Pemphigus vulgaire					
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	65	VS (100) Autres MCNI (97)*	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	52,3 (33/65) 98,5 (64/65)	100 99,6
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	36	VS(40) Autres MC (54)†	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	33,3 100	98,5 100
Pemphigus foliacé					
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	50	VS (100) Autres MCNI (97)‡	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	90 (45/50) S. O.	100 99,6

Abréviations : Dsg : desmoglénine; MC : maladies cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; Se : sensibilité; S. O. : sans objet; Sp : spécificité; VS : volontaires.

*MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire, le carcinome basocellulaire et le carcinome squameux cellulaire.

†MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

‡ MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire et le carcinome.

5.2.2 Performance clinique des anti-BP180 et BP230, antidesmoglénines 1 et 3 par immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

Les résultats d'études ayant analysé la performance diagnostique des trousse commerciales ELISA sont présentés au tableau 6 pour les cas de pemphigoïde bulleuse et au tableau 7 pour le pemphigus. La plupart de ces études ont utilisé la méthode conventionnelle, soit l'immunofluorescence indirecte avec un substrat (œsophage de singe ou peau humaine traitée au NaCl). Cette méthode ne permet pas de différencier entre les autoanticorps et le substrat utilisé peut ne pas réagir avec tous les sérums de patients atteints de pemphigoïde bulleuse ou pemphigus. L'analyse quantitative des autoanticorps avec les différentes trousse ELISA complète la démarche diagnostique.

Pemphigoïde bulleuse

La méta-analyse des résultats de 17 études publiées entre 1994 et 2011 [Tampoia *et al.*, 2012a] portant sur la pemphigoïde bulleuse montre que les trousse ELISA utilisant les antigènes BP180 pour la recherche de l'anti-BP180 ont une sensibilité de 87 % (entre 85 et 89 %) et une spécificité de 98 % (entre 98 et 99 %). L'aire sous la courbe est de 0,988. Les auteurs concluent que cette méthode est hautement sensible et spécifique pour la détection d'autoanticorps dans les cas de pemphigoïde bulleuse.

Les résultats de neuf autres études recensées rapportent pour la détection de l'anti-BP180 une meilleure performance clinique avec une sensibilité et une spécificité qui varient entre 80 et 100 % et entre 90 et 100 %, respectivement, comparativement aux résultats de l'immunofluorescence indirecte sur un substrat dont la sensibilité et la spécificité varient entre 50 et 100 % et entre 63 et 100 %, respectivement. Parmi ces études, celle de Damoiseaux et ses collaborateurs [2012] souligne que la spécificité de la trousse anti-BP180

ELISA (EUROIMMUN) pourrait augmenter de 93,0 % à 94,7 %, sans que sa sensibilité soit compromise, pour des valeurs seuil qui varient de 20 à 25 RU/ml selon une analyse de la courbe ROC.

Tampoia et ses collaborateurs [2012b] ont comparé des trousse ELISA de deux compagnies différentes (EUROIMMUN et MBL) et ils ont relevé des concentrations moyennes des anti-BP180 et anti-BP230 statistiquement différentes entre les groupes de patients malades et témoins ($p < 0,0001$ et $p < 0,04$ respectivement). L'aire sous la courbe pour les trousse ELISA (EUROIMMUN) versus ELISA (MBL) est pour l'anti-BP180 de 0,964 (0,907 à 0,990) versus 0,945 (0,882 à 0,981) ($p = 0,610$) et pour l'anti-BP230 de 0,748 (0,617 à 0,853) versus 0,889 (0,779 à 0,956) ($p = 0,058$).

Pour l'anti-BP230, la sensibilité est de 33,3 à 72,3 % avec une spécificité de 82,5 à 100 %. Damoiseaux et ses collaborateurs [2012] soulignent que, selon une analyse de la courbe ROC, une augmentation des valeurs seuil de 20 à 25 RU/ml de l'anti-BP230 ELISA (EUROIMMUN) induirait une sensibilité de 56,7 % et une spécificité de 87,7 %. Ils rapportent également que tous les tests spécifiques de l'antigène BP180 ont un rapport de vraisemblance positif > 10 , ce qui rend les résultats cliniquement significatifs. Toutefois, la significativité est modeste puisque les rapports de vraisemblance négatifs sont compris entre 0,1 et 0,2.

Pemphigus vulgaire

La méta-analyse de 13 études [Tampoia *et al.*, 2012b] portant sur le pemphigus vulgaire et la détection de l'antidesmogléine 3 par ELISA a montré une sensibilité de 97 % et une spécificité de 98 %. L'aire sous la courbe ROC est de 0,995. Les auteurs concluent que les tests ELISA utilisant les antigènes desmogléine 3 recombinants sont hautement sensibles et spécifiques pour la détection d'autoanticorps pour le diagnostic du pemphigus vulgaire.

Pour cinq autres études, les trousse ELISA pour la détection de l'antidesmogléine 3 ont une sensibilité qui varie de 83 à 100 % et une spécificité entre 95 % et 98,5 %.

L'immunofluorescence indirecte sur un substrat a une sensibilité de 68,5 à 100 % et une spécificité de 95,5 % (une seule étude) dans la détection des autoanticorps ant substance intercellulaire typique du pemphigus. L'antidesmogléine 1 par ELISA montrait une sensibilité variant de 25 à 77,8 % et une spécificité entre 95,5 et 100 %. La performance de l'immunofluorescence sur un substrat est aussi basse, entre 42 et 81 %, mais avec une spécificité de 100 % (une seule étude).

Pemphigus foliacé

Deux études montrent une sensibilité de l'antidesmogléine 1 entre 75 et 91 % pour diagnostiquer des cas de pemphigus foliacé et une spécificité de 100 % (une seule étude). La sensibilité de l'immunofluorescence indirecte sur un substrat est entre 42 et 81 % et la spécificité de 100 % (une seule étude). Les mêmes études rapportent des sensibilités très faibles pour l'antidesmogléine 3, soit entre 12 % et 37,5 %, et une spécificité de 100 % (une seule étude) [Cozzani *et al.*, 2013; Cunha *et al.*, 2006]. Cunha et ses collègues [2006] soulignent que, bien que des études antérieures aient associé la présence de l'antidesmogléine 3 au pemphigus vulgaire, il n'y a pas d'essai avec une précision à 100 % pour le diagnostic différentiel des deux formes de pemphigus.

Tableau 6 Performance clinique de l'IFI et de l'ELISA pour le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	Expérimental N	Témoin (N)	IFIC	Se % (n/N)	Sp %	ELISA (Seuil)	Se % (n/N)	Sp. %
Méta-analyse								
Tampoia <i>et al.</i> , 2012a*	1178	VS (2058) ou autres MCNI‡ (1113)	NR			Anti-BP180 (de 5 à 20 U/ml ou OD : entre 0,207 et 0,443)	87	98
Études primaires								
Damoiseaux <i>et al.</i> , 2012	60	MAIC (22) § autres MIC (35)	Anti-ZMB (CES) Anti-ZMB (PH NaCl)	95 (57/60) 95 (57/60)	84,2 77,2	Anti-BP180-NC16A (20 RU/ml) ¶ Anti-BP230 (20 RU/ml) ¶	86,7 (52/60) 60 (n.d.)	93 82,5
						Anti-BP180-NC16A (9 U/m) ** Anti- BP230 (9 U/ml) **	80 (48/60) 58,3 (n.d.)	98,2 93
Le Saché-de Peufeilhoux <i>et al.</i> , 2012	74	NR	Anti-ZMB (CES) Anti-ZMB (PH NaCl)	93 (69/74) 95 (70/74)		Anti-BP180-NC16A (9 AU) Anti-BP230 (9 AU)	92 (68/74) 58 (43/74)	
Lee <i>et al.</i> , 2012	47	VS (15) EBA (16)	Anti-ZMB (PH NaCl)	100 (47/47)	n.d.	Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 N-terminus (9 U/ml)	97,9 (46/47) 72,3 (34/47)	90,3 100
Patsatsi <i>et al.</i> , 2012	39	NR	NR			Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 (9 U/ml)	100 (39/39) 66,7 (26/39)	n.d.
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	40	VS(40) Autres MC (54) ‡‡	Anti-ZMB (CES)	50	100	Anti-BP180† Anti-BP230†	85 33,3	100† 100†
Yang <i>et al.</i> , 2012	62	VS (32); PV (19); PF (11)	Anti-ZMB (PH NaCl)	83,9 (52/62)	100	Anti-BP180-NC16A (> 9 U/ml) Anti-BP230 N-terminus et C- terminus (> 9 U/ml)	87,1 (54/62) 56,5	100 100

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
							(35/62)	
Zarian <i>et al.</i> , 2012	18	VS (3) PV (2)	NR			Anti-BP180-NC16A (9 U/ml)	100 (18/18)	100
Charneux <i>et al.</i> , 2011	138	0 ††	Anti-ZMB (ÆS) Anti-ZMB (PH NaCl)	68 (90/132) 62 (70/113)		Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 (9U/ml)	86 (119/138) 59 (81/138)	
Roussel <i>et al.</i> , 2011	190	Pemphigus (40) Pemphigoïde cicatriciel (22); EBA (16)	Anti-ZMB (PH)	81 (153/190)	63	Anti-BP180 (9U/ml) Anti-BP230 (9U/ml)	79 (150/190) 61 (115/190)	90 96

Abréviations : AU : *arbitrary unit*; BP : *Bullous Pemphigoid*; EBA : épidermolyse bulleuse acquise; IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; MAIC : maladies auto-immunes cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; MIC : maladies inflammatoires cutanées; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; n.d. : non disponible; NR : non rapporté; ÆS: oesophage de singe; OD : *optical density*; PH : peau humaine clivée avec NaCl.; RU : *relative unit*; VS : volontaires sains; ZMB : zone de la membrane basale.

* Sur 17 études : ELISA (MBL) pour 11 études et ELISA (maison) pour 6 études. Le nombre total de patients a été calculé à partir du tableau 1 de l'étude en raison de la discordance des chiffres rapportés dans le texte et dans le tableau 1.

‡ Maladies telles que le pemphigus, l'épidermolyse bulleuse.

§ MAIC : pemphigus *vulgaris*/foliacé (8); lupus érythémateux cutané subaigu ou chronique (5); vascularite (4); psoriasis (2); dermatose à IgA (1); dermatite herpétiforme (2).

|| MIC (35) : eczéma (11); prurigo (6); érythème (3); autres manifestations cutanées diverses (15).

¶ ELISA (Euroimmun)

**ELISA (MBL)

†† Les auteurs mentionnent que la spécificité de ces tests sur des échantillons témoins n'a pas été évaluée puisque cela avait déjà été analysé par d'autres études.

‡‡ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

† Les valeurs de sensibilité ont été calculées par les auteurs à partir d'une spécificité fixée à 98,8 % [Tampoia *et al.*, 2012b].

Tableau 7 Résultats sur la performance clinique de la méthode ELISA pour le diagnostic de pemphigus vulgaire et foliacé

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	EXPÉRIMENTAL N	TÉMOIN (N)	IFIC	SE % (N/N)	SP %	ELISA (SEUIL)	SE % (N/N)	SP %
Pemphigus vulgaire								
Méta-analyse								
Tampoia <i>et al.</i> , 2012a*	654	VS (926) ou autres MCNI ‡ (1354)	NR			Anti-Dsg 3 (7 à 20 U/ml)	97	98
Étude primaire								
Avgerinou <i>et al.</i> , 2013	54	NR	Anti-SIC	68,5		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (14 U/ml)	77,8 87	
Cozzani <i>et al.</i> , 2013	12	NR	Anti-SIC (ÆS)	100 (12/12)		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	25 (3/12) 83 (10/12)	
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	36	VS(40) Autres MC (54) §	Anti-SIC (ÆS)	83,3	95,5	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	44,4 100	95,5 98,5
Belloni-Fortina <i>et al.</i> , 2009	20	VS (20)	NR			Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	60 (12/20) 90 (18/20)	100 95
Daneshpazhooh <i>et al.</i> , 2007	73	NR	NR			Anti-Dsg 1 (>20 U/ml) Anti-Dsg 3 (>20 U/ml)	76,7 (56/73) 94,5 (69/73)	
Pemphigus foliacé								
Cozzani <i>et al.</i> , 2013	8	NR	Anti-SIC (ÆS)	42 (5/12)		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	75 (6/8) 37,5 (3/8)	
Cuhna <i>et al.</i> , 2006	32	VS (15)	Anti-SIC (PH NaCl)	81 (26/32)	100	Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	91 (29/32) 12 (4/32)	100 100

Abréviations : Dsg : desmogléine; IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; NR : non rapporté; ÆS : œsophage de singe; PH : peau humaine; Se : sensibilité; SIC : substance intercellulaire; Sp. : spécificité; VS : volontaires sains.

* Sur 13 études : ELISA (MBL) (9 études), ELISA (EUROIMMUN) (1 étude) et ELISA (méthode maison) (3 études). Le nombre total de patients a été calculé du tableau 1 de l'étude en raison de la discordance des chiffres rapportés dans le texte et dans le tableau 1.

‡ Maladies telles que le pemphigus et l'épidermolyse bulleuse.

§ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

|| Les valeurs de sensibilité ont été calculées par les auteurs à partir d'une spécificité fixée à 98,8 % [Tampoia *et al.*, 2012b].

Récidive cutanéomuqueuse

Abasq et ses collaborateurs [2009] ont évalué la sensibilité et la spécificité des antidesmoglénines 1 et 3 pour le diagnostic d'une récidive cutanéomuqueuse du pemphigus vulgaire et foliacé sous traitement. Selon les valeurs seuil proposées par le fabricant (> 20 U/ml pour l'antidesmoglénine 1 et > 14 U/ml pour l'antidesmoglénine 3), la sensibilité et spécificité de l'antidesmoglénine 1 étaient de 86 % et 78 % avec des valeurs prédictives positive et négative de 79 % et 85 % respectivement. L'antidesmoglénine 3 avait une sensibilité de 100 % avec une faible spécificité (23 %) pour le diagnostic de récidive au niveau des muqueuses. L'analyse de la courbe ROC a permis de déterminer que la valeur seuil de l'antidesmoglénine 3 pour obtenir une sensibilité et une spécificité optimales (80 % et 84 % respectivement) était de 130 U/ml. Les auteurs concluent que l'antidesmoglénine 1 a une bonne valeur prédictive d'une récidive cutanée, alors que l'antidesmoglénine 3 ne prédit pas assez bien la récidive muqueuse et ne doit pas être utilisée seule pour une décision thérapeutique en l'absence des symptômes cliniques.

5.2.3 Diagnostic du pemphigus paranéoplasique par détection des anticorps anti-envoplakine et périplakine par ELISA

Les deux études présentées dans le tableau 8 portent sur le pemphigus paranéoplasique. Les tests ELISA utilisant des protéines recombinantes d'envoplakine et de périplakine sont hautement sensibles et spécifiques pour le diagnostic du pemphigus paranéoplasique. Cependant, le nombre de patients disponibles est très faible, et une taille d'échantillon plus importante est nécessaire pour promouvoir la valeur diagnostique des deux trousse ELISA [Huang *et al.*, 2009].

Tableau 8 Résultats sur la performance clinique de la méthode ELISA pour le diagnostic de pemphigus paranéoplasique

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	Expérimental N	Témoin (N)	IFIC	Se % (n/N)	Sp %	ELISA (Seuil)	Se % (n/N)	Sp. %
Huang <i>et al.</i> , 2009	16	PV (20) PF (12) PB (20) TC *(2) VS (20)	Vessie de rat			Envoplakine (4,3) Periplakine (6,4)	100 100	100 100
Probst <i>et al.</i> , 2009	31	PV (30) PB (50) VS (140)	ŒS ou Vessie de rat	NR	NR	envoplakine ₁₋₄₈₁ (n.d.)	80,6	98,8
						envoplakine ₁₆₂₆₋₂₀₃₃ (n.d.)	80,6	97,5
						periplakine ₁₋₃₂₄ (n.d.)	74,2	96,3

Abréviations : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; NR : non rapporté; ŒS : œsophage; PV : pemphigus vulgaire; PF : pemphigus foliacé; PB : pemphigoïde bulleuse; Se : sensibilité; Sp. : spécificité; VS : volontaires sains.

*Tumeurs de Castleman sans symptômes de pemphigus paranéoplasique.

Pour Probst et ses collaborateurs [2009], le test ELISA basé sur un fragment N-terminal d'envoplakine montre une précision diagnostique élevée pour détecter les anticorps anti-envoplakine circulants dans le pemphigus paranéoplasique. La sensibilité des envoplakines par méthode ELISA (envoplakine₁₋₄₈₁ et envoplakine₁₆₂₆₋₂₀₃₃) est de 80,6 % et la spécificité est comprise entre 97,5 % et 98,8 %. Pour la périplakine₁₋₃₂₄, la sensibilité est de 74,2 % et la spécificité de 96,3 %. L'exactitude diagnostique des envoplakines est de 93,7 % et celle de la périplakine₁₋₃₂₄ de 92,8 (p < 0,0001).

5.3 Validité analytique (ou technique)

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité			
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique			
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice	x		
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test			

Aucune étude visant la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte ou l'ELISA n'a été repérée concernant la validité technique. Les données de validité analytique des trousse ELISA sont tirées de la monographie du fabricant [EUROIMMUN, 2014] et des avis de décision de la FDA.

Reproductibilité

Les données de reproductibilité des trousse ELISA (EUROIMMUN) sont présentées dans le tableau 9.

Tableau 9 Coefficients de variation intra et interessai observés à différentes valeurs seuil pour la détection des différents autoanticorps (ELISA, EUROIMMUN)

AUTOANTICORPS	INTRAESSAI		INTERESSAI	
	Valeur seuil moyenne (RU/ml)	% CV *	Valeur seuil moyenne (RU/ml)	% CV†
Anti-BP 180	27	3,0	26	4,8
	61	1,2	61	3,1
	119	1,6	119	4,2
	177	2,1	174	2,6
Anti-BP230	24	5,0	23	6,8
	61	4,6	60	3,5
	97	3,4	101	6,1
	114	3,0	111	3,4
Anti-Dsg3	42	4,4	44	6,1
	63	2,6	69	5,3

	155	5,9	163	3,3
Anti-Dsg1	27 73 111	4,0 3,1 3,3	46 70 114	3,7 6,1 6,0
Anti-envoplakine	2,2‡ 2,9‡ 3,4‡	2,9 1,6 2,4	2,2‡ 3,0‡ 3,4‡	3,9 2,8 3,9

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; Dsg : desmoglérine; CV : coefficient de variation; ml : militer; RU : *Relative Unit*

*La variation intraessai a été déterminée par 20 mesures de sérum.

†La variation interessai a été déterminée par 4 mesures sur 6 séries de tests différents.

‡ Valeur moyenne du ratio.

Précision

L'évaluation des trousse ELISA de la compagnie MBL (Medical & Biological Laboratories) montre des coefficients de variation intra et interessai < 5 %) pour l'anti-BP180 et < 10 % pour l'anti-BP230 (tableau 10).

Tableau 10 Coefficients de variation intra et interessai observés à différentes valeurs seuil pour la détection des anti-BP 180 et 230 (ELISA MESACUP)

AUTOANTICORPS	INTRAESSAI				INTERESSAI			
	Valeur seuil moyenne (RU/ml)		% CV *		Valeur seuil moyenne (RU/ml)		% CV†	
Anti-BP180	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
	5,4	5,3	5,8	1,3	8,1	7,7	3,4	4,1
	9,4	10,0	2,9	1,6	11,9	12,1	4,1	4,7
	17,8	18,0	3,1	3,2	23,0	23,2	2,4	2,4
	50,7	52,2	1,1	1,6	46,1	46,7	1,5	1,5
	116,6	117,0	0,6	1,3	89,5	90,3	1,7	1,7
	201,5	191,8	1,2	2,2				
	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
Anti-BP230	5,9	5,2	2,2	4,5	8,2	8,7	5,0	6,9
	11,3	10,6	2,1	3,2	17,2	17,5	1,6	2,1
	16,7	17,0	3,4	2,6	19,1	22,4	9,7	9,1
	20,6	23,5	1,9	3,9	71,3	74,2	7,8	6,7
	66,0	70,3	3,2	1,5	141,3	130,0	4,9	4,2
	139,6	130,9	1,1	3,4				

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; CV : coefficient de variation; ml : militer; RU : *Relative Unit*

*La variabilité intraessai a été testée sur trois échantillons, 8 fois sur trois tests distincts en utilisant deux différents lots.

† La variabilité interessai a été testée sur trois échantillons dans 8 essais répétitifs pendant cinq jours consécutifs.

Linéarité

L'analyse de la capacité des trousse ELISA (EUROIMMUN) à reproduire le résultat attendu pour une série de 4 dilutions de 6 échantillons sériques donne un coefficient de corrélation $R^2 > 0,95$. Les autoanticorps sont linéaires pour au moins des valeurs seuil comprises entre 10 et 199 RU/ml pour l'anti-BP 180, entre 17 et 190 RU/ml pour l'anti-BP230, entre 9 et 197 RU/ml pour l'antidesmogléine 1 et entre 14 et 195 RU/ml pour l'antidesmogléine 3.

Limite de détection

Pour les différentes trousse ELISA (EUROIMMUN), la limite inférieure de la détection est de 0,6 RU/ml (anti-BP 180), de 1,0 RU/ml (l'anti-BP230), de 0,5 RU/ml (antidesmogléine 1), de 0,3 RU/ml (antidesmogléine 3) et de 0,07 (ratio) (envoplakine).

Spécificité analytique

Interférence

Trousses ELISA (EUROIMMUN) anti-BP 180, anti-BP 230, antidesmogléines 1 et 3, envoplakine

Aucune interférence avec des échantillons hémolytiques, lipémiques et ictériques jusqu'à une concentration d'hémoglobine de 10 mg/ml, de triglycérides de 20 mg/ml et de bilirubine de 0,4 mg/ml.

Trousses ELISA (MESACUP, MBL) pour l'anti-BP 180 et l'anti-BP 230

Aucun effet significatif sur les résultats de l'essai n'a été noté par l'addition de substances interférentes (bilirubine C : 39,0 mg/dl, bilirubine F : 37,2 mg/dl, hémoglobine : 440,0 mg/dl, le chyle : 2350 unités) dans trois échantillons de patients (négatif, positivité faible et élevée).

Réactivité croisée

Trousses ELISA (EUROIMMUN) : anti-BP180, anti-BP230, antidesmogléines 1 et 3

Il n'y a pas eu de réaction croisée observée avec d'autres autoanticorps dans les échantillons sériques de patients avec :

- sclérodermie (n = 18) pour la BP 180;
- sclérodermie (n = 12) et pemphigus vulgaire (n = 15) pour la BP 230;
- pemphigoïde bulleuse (n = 20) et dermatose linéaire à IgA (n = 20) pour les desmogléines 1 et 3;
- pemphigoïde bulleuse (n = 30) et le pemphigus vulgaire (n = 20) pour l'envoplakine.

Trousses ELISA (MESACUP, MBL) pour l'anti-BP 180 et l'anti-BP 230

Il n'y avait pas de réaction croisée avec les échantillons sériques de patients avec le virus d'Epstein Barr, *Treponema pallidum*, lupus érythémateux systémique, arthrite rhumatoïde, syndrome de Sjögren's et autres maladies, sauf pour le pemphigus (réaction positive à 7 %) et l'épidermolyse bulleuse acquise (33,3 %) pour la BP 180 et seulement pour le pemphigus (réaction positive à 3,9 %) pour la BP 230.

Effet de matrice (matrix effect)

Trousse ELISA (EUROIMMUN) anti-BP180

L'influence de la nature du prélèvement, soit sérum versus plasma avec différents

anticoagulants (EDTA²⁰, héparine, citrate), a été testée par une analyse de régression de Passing-Bablok. L'intervalle de confiance à 95 % de la pente contient la valeur 1,0 et l'intervalle de confiance à 95 % de l'ordonnée à l'origine contient la valeur 0 indiquant une équivalence entre la concentration de sérum et de plasma des matrices correspondantes.

Trousse ELISA (EUROIMMUN)

Le but de l'analyse était de démontrer que la récupération de l'analyte du plasma sur anticoagulants de type héparine de lithium, citrate et EDTA était équivalente à l'analyte récupéré à partir des prélèvements de sérum. Les échantillons provenant du même patient ont été recueillis dans les quatre tubes de prélèvement et testés. L'analyse de régression confirme l'hypothèse et présente pour l'antidesmogléine 1 des coefficients R^2 de 0,994 (héparine de lithium), 0,992 (citrate), 0,988 (EDTA) et pour l'antidesmogléine 3 des coefficients R^2 de 0,994 (héparine de lithium), 0,991 (citrate) et 0,983 (EDTA).

Corrélation des résultats de l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

Pemphigoïde bulleuse

Le Saché-de Peufeilhoux et ses collaborateurs [2012] ont démontré une corrélation significative entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et l'anti-BP230 par ELISA chez 74 patients (tableau 11).

Tableau 11 Résultats de la corrélation entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et la méthode ELISA pour la pemphigoïde bulleuse

MÉTHODE		COEFFICIENT DE CORRÉLATION (SPEARMAN R)	VALEUR DE P
IFIC	ELISA anti-BP180	- 0,12	0,32
IFIC	ELISA anti-BP230	0,75	0,0001

Abréviation : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle

Pemphigus vulgaire

Herrero-González et ses collaborateurs [2010] ont rapporté une corrélation significative entre l'antidesmogléine 3 et l'immunofluorescence indirecte conventionnelle chez 40 patients (tableau 12).

Tableau 12 Résultats de la corrélation entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et la méthode ELISA pour le pemphigus vulgaire

MÉTHODE		COEFFICIENT DE CORRÉLATION (SPEARMAN RHO)	VALEUR DE P
IFIC	ELISA anti-Dsg3	0,736	< 0,001
IFIC	ELISA anti-Dsg1	0,082	0,650

Abréviation : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle.

Concordance

Immunofluorescence indirecte avec mosaïque BIOCHIP versus immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

L'étude de Van Beek et ses collaborateurs [2012] (n = 454) est la seule ayant comparé l'immunofluorescence indirecte sur six substrats (mosaïque BIOCHIP) avec

20. EDTA : *Ethylenediaminetetraacetic acid* ou acide éthylène diamine tétraacétique.

l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat œsophage de singe ou peau humaine traitée au NaCl) complétée par la méthode ELISA avec différentes trousse de substrats (antidesmoglénines 1 et 3, anti-BP180 et BP230 et envoplakine).

Une concordance élevée (93,6 %) des résultats des deux méthodes a été observée. Il y a eu concordance pour des sérums positifs ($\kappa = 0,97$) et 322 sérums négatifs sans autoanticorps ($\kappa = 0,88$). Toutefois, pour 21 patients (4,6 %), il n'y avait pas de réaction avec la mosaïque BIOCHIP alors que la méthode conventionnelle a révélé des cas de maladies auto-immunes bulleuses. Chaque résultat discordant a été analysé.

Immunofluorescence indirecte avec mosaïque BIOCHIP et ELISA

La concordance des résultats est élevée entre la mosaïque BIOCHIP et l'ELISA pour :

- la pemphigoïde bulleuse :
 - détection de l'anti-BP180 : entre 79,5 et 93,2 % [Damoiseaux *et al.*, 2012] et 90 % [Tampoia *et al.*, 2012b];
 - détection de l'anti-BP230 : 87,2 % [Damoiseaux *et al.*, 2012].
- le pemphigus vulgaire [Tampoia *et al.*, 2012b] :
 - détection de l'antidesmoglénine 3 : 100 % (κ variant de 0,901 à 1,0).

5.4 Recommandations d'autres organismes

En France, les centres de référence pour le diagnostic et la surveillance du pemphigus et de la pemphigoïde bulleuse recommandent une analyse sérologique par immunofluorescence indirecte sur un substrat et recherche d'anti-BP180-NC16A [Bernard *et al.*, 2011] ou d'antidesmoglénines 1 et 3 [Joly *et al.*, 2011] par ELISA. Dans le cas du pemphigus, l'ELISA est une option recommandée [Joly *et al.*, 2011].

La recherche d'anticorps BP180-NC16A par ELISA est utile en complément de l'immunofluorescence directe devant une éruption urticarienne atypique pendant la grossesse (pemphigoïde de la grossesse). L'intérêt diagnostique de l'ELISA seul reste à préciser [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011].

Au Royaume-Uni, le guide clinique sur la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse mentionne que la méthode ELISA n'est pas largement disponible, mais qu'elle est utile dans des cas sélectionnés (sans d'autres précisions sur ces cas) et en recherche.

L'immunofluorescence directe et indirecte sur substrat (peau humaine traitée au sel) demeure la méthode de référence pour le diagnostic [Venning *et al.*, 2012].

L'European Autoimmunity Standardisation Initiative (EASI) a également publié un guide de pratique où l'immunofluorescence indirecte sur œsophage de singe et les trousse ELISA représentent la méthode diagnostique du pemphigus et de la pemphigoïde bulleuse [Shoenfeld et Meroni, 2012].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été analysé.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

L'immunofluorescence indirecte sur la mosaïque BIOCHIP et les trousse ELISA permettent la détection de la pemphigoïde bulleuse et le diagnostic différentiel entre les pemphigus vulgaire et foliacé. Les trousse ELISA peuvent être réservées pour les cas douteux et atypiques de la pemphigoïde bulleuse et elles sont appropriées pour la surveillance des titres d'autoanticorps durant l'évolution de la maladie et le suivi des patients. La recherche d'anti-BP230 ne devrait pas être effectuée systématiquement, mais elle pourrait être proposée pour une minorité de patients chez qui l'ELISA est négatif pour l'anti-BP180 ou dans les formes atypiques. L'intérêt de l'antidesmoglérine 1 dans le suivi du pemphigus foliacé n'est pas démontré.

7.2 Validité clinique

La mosaïque BIOCHIP révèle une sensibilité et une spécificité comparables à celles de l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat) et des différentes trousse ELISA. La sensibilité de ces deux méthodes est toutefois de faible à moyenne dans certains cas.

7.3 Validité analytique

Les trousse ELISA évaluées présentent une bonne validité analytique. Des données limitées suggèrent une concordance élevée (93,6 %) entre la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat) avec les différentes trousse ELISA pour le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse et des pemphigus vulgaire et foliacé.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Les guides de pratique disponibles n'abordent pas la méthode avec la mosaïque BIOCHIP, mais ils recommandent les trousse ELISA comme une option ou une méthode complémentaire à l'immunofluorescence indirecte selon la méthode conventionnelle.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Analyse du profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie : ELISA pour 2 des 6 substrats
- ☒ Innovatrice : BIOCHIP
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Avis de recommandation d'introduction
- ☒ Avis de refus d'introduction de la demande telle que présentée
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Il aurait été préférable de :

- présenter chaque analyse séparément, par marqueur et par maladie, pour en établir la pertinence clinique;
- présenter un algorithme pour les indications de l'analyse;
- mieux définir la valeur pondérée pour chaque analyse;
- définir les valeurs seuil;
- justifier la valeur clinique ajoutée de la BIOCHIP par rapport au test d'immunofluorescence conventionnelle déjà disponible.

RÉFÉRENCES

- Abasq C, Mouquet H, Gilbert D, Tron F, Grassi V, Musette P, Joly P. ELISA testing of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies in the management of pemphigus. *Arch Dermatol* 2009;145(5):529-35.
- Atzori L, Deidda S, Aste N. Enzyme-linked immunosorbent assay in autoimmune blistering diseases: Preliminary experience of the Dermatology Department of Cagliari. *G Ital Dermatol Venereol* 2008;143(1):1-8.
- Avgerinou G, Papafragkaki DK, Nasiopoulou A, Markantoni V, Arapaki A, Servitzoglou M, et al. Correlation of antibodies against desmogleins 1 and 3 with indirect immunofluorescence and disease status in a Greek population with pemphigus vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27(4):430-5.
- Belloni-Fortina A, Faggion D, Pigozzi B, Peserico A, Bordignon M, Baldo V, et al. Detection of autoantibodies against recombinant desmoglein 1 and 3 molecules in patients with pemphigus vulgaris: Correlation with disease extent at the time of diagnosis and during follow-up. *Clin Dev Immunol* 2009;2009:Article ID 187864.
- Bernard P, Bedane C, Prost C, Ingen-Housz-Oro S, Joly P. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):247-51.
- Bernard P, Reguiat Z, Tancrede-Bohin E, Cordel N, Plantin P, Pauwels C, et al. Risk factors for relapse in patients with bullous pemphigoid in clinical remission: A multicenter, prospective, cohort study. *Arch Dermatol* 2009;145(5):537-42.
- Charneux J, Lorin J, Vitry F, Antonicelli F, Reguiat Z, Barbe C, et al. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: A retrospective study of 138 patients. *Arch Dermatol* 2011;147(3):286-91.
- Cozzani E, Di Zenzo G, Riva S, Calabresi V, Sera F, Drosera M, et al. Are clinical phenotype and autoantibody profile always concordant in pemphigus? A study in a cohort of pemphigus patients. *Eur J Dermatol* 2013;23(1):40-8.
- Cunha PR, Bystryń JC, Medeiros EP, de Oliveira JR. Sensitivity of indirect immunofluorescence and ELISA in detecting intercellular antibodies in endemic pemphigus foliaceus (Fogo Selvagem). *Int J Dermatol* 2006;45(8):914-8.
- Damoiseaux J, van Rijnsing M, Warnemünde N, Dähnrich C, Fechner K, Tervaert JW. Autoantibody detection in bullous pemphigoid: Clinical evaluation of the EUROPLUS™ Dermatology Mosaic. *J Immunol Methods* 2012;382(1-2):76-80.
- Daneshpazhooh M, Chams-Davatchi C, Khamesipour A, Mansoori P, Taheri A, Firooz A, et al. Desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay in Iranian patients with pemphigus vulgaris: Correlation with phenotype, severity, and disease activity. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21(10):1319-24.
- EUROIMMUN. Product catalogue 2014. Lübeck, Allemagne : EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG; 2014. Disponible à : <http://www.euroimmun.de/index.php?id=2095&L=1>.

- Feng S, Wu Q, Jin P, Lin L, Zhou W, Sang H, et al. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *Int J Dermatol* 2008;47(3):225-8.
- Grando SA. Pemphigus autoimmunity: Hypotheses and realities. *Autoimmunity* 2012;45(1):7-35.
- Haute Autorité de Santé (HAS). Maladies bulleuses auto-immunes – Pemphigoïde bulleuse. Protocole national de diagnostic et de soins pour les maladies rares. Saint-Denis La Plaine : HAS; 2011a. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/ald_hors_liste_-_pnds_sur_la_pemphigoide_bulleuse.pdf.
- Haute Autorité de Santé (HAS). Maladies bulleuses auto-immunes – Pemphigus. Protocole national de diagnostic et de soins pour les maladies rares. Saint-Denis La Plaine : HAS; 2011b. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/ald_hors_liste_-_pnds_sur_le_pemphigus.pdf.
- Herrero-González JE, Iranzo P, Benítez D, Lozano F, Herrero C, Mascaró JM Jr. Correlation of immunological profile with phenotype and disease outcome in pemphigus. *Acta Derm Venereol* 2010;90(4):401-5.
- Huang Y, Li J, Zhu X. Detection of anti-envoplakin and anti periplakin autoantibodies by ELISA in patients with paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol Res* 2009;301(10):703-9.
- Humbel RL. Autoanticorps et autoantigènes de la peau. *GEAI L'Info* 2003;6:1-5. Disponible à : <http://geai-lesautoanticorps.fr/document.php?fname=docs/documents/GEAlinfo-6-1290698241.pdf>.
- Ingen-Housz-Oro S, Bedane C, Prost C, Joly P, Bernard P. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde de la grossesse. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):264-6.
- Joly P, Bernard P, Bedane C, Prost C, Ingen-Housz-Oro S. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge du pemphigus. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):252-8.
- Joly P et Sin C. Pemphigus : revue de la littérature. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):182-200.
- Lee EH, Kim YH, Kim S, Kim SE, Kim SC. Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant BP180 and BP230 for serodiagnosis and monitoring disease activity of bullous pemphigoid. *Ann Dermatol* 2012;24(1):45-55.
- Le Saché-de Peuffelhox L, Ingen-Housz-Oro S, Hue S, Sbidian E, Valeyrie-Allanore L, Ortonne N, et al. The value of BP230 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis and immunological follow-up of bullous pemphigoid. *Dermatology* 2012;224(2):154-9.
- Patsatsi A, Kyriakou A, Pavlitou-Tsiontsi A, Giannakou A, Sotiriadis D. Association of autoantibodies to BP180 with disease activity in Greek patients with bullous pemphigoid. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:Article ID 854795.
- Probst C, Schlumberger W, Stöcker W, Recke A, Schmidt E, Hashimoto T, et al. Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus. *Clin Chim Acta* 2009;410(1-2):13-8.

- Roussel A, Benichou J, Randriamanantany ZA, Gilbert D, Drenovska K, Houivet E, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the combination of bullous pemphigoid antigens 1 and 2 in the diagnosis of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 2011;147(3):293-8.
- Sharma VK, Prasad HR, Khandpur S, Kumar A. Evaluation of desmoglein enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in Indian patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2006;45(5):518-22.
- Schmidt E, Della Torre R, Borradori L. Clinical features and practical diagnosis of bullous pemphigoid. *Immunol Allergy Clin North Am* 2012;32(2):217-32.
- Schmidt E, Dähnrich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Saschenbrecker S, et al. Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: Correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. *Exp Dermatol* 2010;19(5):458-63.
- Shoenfeld Y et Meroni PL. The general practice guide to autoimmune diseases. Lengerich, Allemagne : Pabst Science Publishers; 2012.
- Tampoia M, Giavarina D, Di Giorgio C, Bizzaro N. Diagnostic accuracy of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) to detect anti skin autoantibodies in autoimmune blistering skin diseases: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2012a;12(2):121-6.
- Tampoia M, Zucano A, Villalta D, Antico A, Bizzaro N. Anti-skin specific autoantibodies detected by a new immunofluorescence multiplex biochip method in patients with autoimmune bullous diseases. *Dermatology* 2012b;225:37-44.
- Tampoia M, Lattanzi V, Zucano A, Villalta D, Filotico R, Fontana A, et al. Evaluation of a new ELISA assay for detection of BP230 autoantibodies in bullous pemphigoid. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:15-20.
- Van Beek N, Rentzsch K, Probst C, Komorowski L, Kasperkiewicz M, Fechner K, et al. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: Prospective comparison of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:49.
- Venning VA, Taghipour K, Mohd Mustapa MF, Highet AS, Kirtschig G. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of bullous pemphigoid 2012. *Br J Dermatol* 2012;167(6):1200-14.
- Yang B, Wang C, Chen S, Chen X, Lu X, Tian H, et al. Evaluation of the combination of BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assay and BP230 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of bullous pemphigoid. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2012;78(6):722-7.
- Zarian H, Saponeri A, Michelotto A, Zattra E, Belloni-Fortina A, Alaibac M. Biochip technology for the serological diagnosis of bullous pemphigoid. *ISRN Dermatol* 2012;2012:Article ID 237802.