



FACULTÉ
DE MÉDECINE



UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

Le rôle du Demodex dans la rosacée

La rosacée avec papulopustules : une démodécie

Thèse présentée par Fabienne M.N. FORTON

en vue de l'obtention du grade académique de docteur en Sciences
médicales

Année académique 2020-2021

Sous la direction du Professeur Marc Parmentier, promoteur
et du Professeur Viviane De Maertelaer, co-promotrice

Cabinet de dermatologie
Bruxelles

Jury de thèse :

Alain LE MOINE (Université libre de Bruxelles, Président)
Marc PARMENTIER (Université libre de Bruxelles, Secrétaire)
Caroline VERHOEVEN (Université libre de Bruxelles)
Bernard CRIBIER (Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France)
Jean-Hilaire SAURAT (Université de Genève, Suisse)
Athanassios KOLIVRAS (Université libre de Bruxelles)
Bertrand RICHERT (Université libre de Bruxelles)

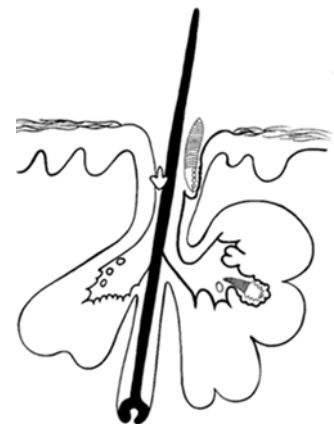


Table des matières

REMERCIEMENTS	9
ABREVIATIONS	11
PREAMBULE	13
1) INTRODUCTION : CONTEXTE GENERAL	17
1.1. Le Demodex.....	17
1.1.1. Définition – classification	17
1.1.2. Historique ^{14,17-19}	17
1.1.3. Epidémiologie.....	19
1.1.4. Anatomie ^{15,25}	20
1.1.4.1. Anatomie externe.....	20
1.1.4.2. Anatomie interne	23
1.1.4.2. A. L'enveloppe	23
1.1.4.2. B. Les systèmes cardiovasculaires et pulmonaires.....	24
1.1.4.2. C. Le système digestif.....	24
1.1.4.2. D. Le système musculaire.....	28
1.1.4.2. E. Le système nerveux.....	28
1.1.4.2. F. Le système génital (Figs. 7 et 11).....	29
1.1.4.3. Interprétations fonctionnelles	29
1.1.5. Demodex folliculorum et Demodex brevis.....	30
1.1.6. Cycle vital	33
1.2. Le Demodex en médecine vétérinaire ⁸⁷	38
1.2.1. Trois Demodex chez le chien.....	38
1.2.2. Transmission & facteurs de risques.....	38
1.2.3. Signes et symptômes ^{92,99}	39
1.2.4. Histologie & physiopathologie ^{97,101,102}	41
1.2.5. Diagnostic	45
1.2.6. Traitement.....	45
1.3. Le Demodex en médecine humaine	47
1.3.1. Les démodécies	48
1.3.1.1. Le pityriasis folliculorum.....	48
1.3.1.2. La démodécie pseudo-rosacée	50
1.3.1.3. La démodécie oculaire	51

1.3.1.4.	Folliculite à Demodex	55
1.3.1.5.	Prurigo démodécique.....	55
1.3.1.6.	Pigmentation post inflammatoire.....	56
1.3.1.7.	Papule ou nodule inflammatoire isolé	56
1.3.1.8.	Eczématides folliculaires.....	57
1.3.2.	Histologie	57
1.3.3.	Diagnostic	58
1.3.4.	Facteurs favorisants	60
1.3.5.	Le Demodex & les cancers cutanés.....	61
1.3.6.	Le Demodex & les bactéries.....	62
1.3.7.	Traitement.....	63
1.3.7.1.	Traitement des démodécies cutanées.....	63
1.3.7.2.	Traitement des démodécies oculaires.....	64
1.4.	La rosacée	67
1.4.1.	Introduction-description générale.....	67
1.4.2.	Epidémiologie.....	67
1.4.3.	Définition : Historique, Nosologie et Diagnostic	68
1.4.3.1.	Premières définitions au XIXème et XXème siècle.....	68
1.4.3.2.	2002 : Consensus de la National Rosacea Society.....	69
1.4.3.3.	2017 : Consensus ROSCO et mise à jour de la National Rosacea Society... ..	72
1.4.3.4.	La rosacée fulminans	75
1.4.4.	Histologie-Immunohistochimie.....	76
1.4.5.	Evaluation - Gradation.....	82
1.4.6.	Diagnostic différentiel ³⁰⁹	83
1.4.7.	Facteurs favorisants	84
1.4.8.	Physiopathologie	85
1.4.8.1.	Physiopathologie des symptômes vasculaires.....	85
1.4.8.1. A.	Stase veineuse passive.....	85
1.4.8.1. B.	Dysfonctionnement neurovasculaire d'origine centrale.....	85
1.4.8.1. C.	Inflammation neurogène locale.....	86
1.4.8.2.	Physiopathologie des symptômes inflammatoires.....	87
1.4.8.2. A.	Cathélicidines LL-37 via la vitamine D	87
1.4.8.2. B.	Cathélicidines LL-37 via le stress du réticulum endoplasmique	90

1.4.8.2. C.	La cathélicidine LL-37 accroît la sensibilité aux UVs	91
1.4.8.2. D.	Les mastocytes, sources de LL-37, relayent l'inflammation.....	91
1.4.8.2. E.	Immunotolérance perdue en cas de rosacée	91
1.4.8.3.	Le microbiote associé à la rosacée	93
1.4.8.4.	Le rôle controversé du Demodex.....	93
1.4.8.4. A.	Les objections déclarées sont multiples.....	94
1.4.8.4. B.	Les postulats de Koch ne sont pas remplis par le Demodex	94
1.4.8.5.	Synthèse de l'hypothèse physiopathologique actuelle dominante	95
1.4.8.6.	Comorbidités surprenantes	96
1.4.8.6. A.	Comorbidités associées à la rosacée	96
1.4.8.6. B.	Paramètres communs entre la rosacée et ses comorbidités	98
1.4.8.6. C.	Interconnexions probables entre la rosacée et ses comorbidités.....	98
1.4.8.6. C.1.	Le stress oxydatif	98
1.4.8.6. C.2.	L'inflammation neurogène & les métabolites intestinaux	99
1.4.8.6. C.3.	Les hormones & la glande sébacée	99
1.4.9.	Traitement.....	99
1.4.9.1.	Traitements classiques.....	99
1.4.9.1. A.	Recommandations générales.....	100
1.4.9.1. B.	Pour lutter contre les phénomènes vasculaires.....	100
1.4.9.1. C.	Pour lutter contre les papules et les pustules.....	101
1.4.9.1. C.1.	Traitements locaux	101
1.4.9.1. C.2.	Traitements par voie orale.....	102
1.4.9.1. C.3.	Cas particuliers.....	103
1.4.9.1. D.	Traitements de la rosacée oculaire	105
1.4.9.2.	Nouveau traitement topique	105
1.4.9.3.	Résumé des recommandations actuelles & cibles thérapeutiques.....	107
1.5.	Problèmes résiduels avant la thèse	109
2)	OBJECTIFS DE LA THÈSE.....	113
3)	ETUDES PRÉLIMINAIRES ET MÉTHODOLOGIQUES, COMMENTAIRES CONNEXES.....	115
3.1.	1986 : Demodex & inflammation périfolliculaire ⁷⁵	115
3.2.	1993 : SSSB & densité normale en Demodex ≤ 5 D/cm ² ⁵¹	129
3.2.1.	Comparaisons avec d'autres méthodes	140
3.2.2.	SSSB et autres dermatoses	141

3.2.3.	Autres techniques et autres dermatoses	142
3.3.	1998 : SSSB & faux négatif ⁴⁹	143
3.4.	1998 : Acaricides topiques ²⁶⁸	149
3.5.	1998 : Folliculite à Demodex ²⁰⁰	157
3.6.	2005 : Grande fréquence des démodécies ¹²⁶	160
3.7.	2005 : Dermatite périorale & Demodex ⁵⁵³	176
3.8.	2006 : SSSB & prévalence ⁵⁰	177
3.9.	2012 : Pityriasis folliculorum, chaînon manquant ²⁰⁵	180
3.10.	2013 : Microscopie confocale & Demodex ⁵⁵⁷ Lettre à l'Editeur	194
3.11.	2015 : Nosologie, démodécies & rosacée ¹¹¹	200
3.12.	2018 : Commentaire de la 1ère étude expérimentale ⁵⁶¹	205
4)	ETUDE GLOBALE RÉTROSPECTIVE	207
4.1.	MATERIEL & METHODES	207
4.1.1.	Etude	207
4.1.2.	Patients	207
4.1.2.1.	Critères d'inclusion	207
4.1.2.2.	Critères d'exclusion	208
4.1.2.2. A.	Dès le départ, ont été exclus :	208
4.1.2.2. B.	Pour les 2 analyses de follow-up (§ 4.2.8.), ^{562,563} ont été exclus en sus :	209
4.1.2.2. C.	En ce qui concerne l'analyse du premier épisode en entier	209
4.1.2.3.	Groupes et sous-groupes	209
4.1.2.3. A.	Cinq groupes diagnostiques principaux	209
4.1.2.3. B.	Six sous-groupes de démodécie	210
4.1.2.3. C.	"Demodex+" et "Demodex-" pour le test diagnostique	211
4.1.2.3. D.	Sous-groupe A pour l'atteinte du cuir chevelu	211
4.1.2.3. E.	Sous-groupe B pour les symptômes	212
4.1.2.3. F.	Sous-groupes thérapeutiques	212
4.1.2.4.	Sélection des groupes selon les études réalisées	213
4.1.3.	Données collectées	214
4.1.4.	Méthodes de prélèvement	215
4.1.5.	Analyses statistiques	217
4.2.	RESULTATS	217
4.2.1.	Effectifs, âge et sexe	217

4.2.2.	Densités dans les groupes et sous-groupes diagnostiques.....	221
4.2.3.	Test diagnostique ²¹²	223
4.2.3.1.	L'article principal	223
4.2.3.2.	Fichiers supplémentaires joints pour l'internet.....	231
4.2.3.2. A.	Vidéo	231
4.2.3.2. B.	Figure supplémentaire	231
4.2.3.2. C.	Tableaux supplémentaires.....	231
4.2.3.3.	RPP avec densité normale en Demodex : faux négatif ?.....	233
4.2.3.4.	Rosacée, démodécies, dermatite séborrhéique et acné vulgaire	236
4.2.3.5.	Utilisations ultérieures par d'autres auteurs.....	236
4.2.4.	Signes et symptômes ⁵⁶⁴	238
4.2.5.	RPP et démodécie pseudo-rosacée ¹⁶¹	250
4.2.6.	Démodécies subcliniques ⁵⁶⁵	259
4.2.7.1.	L'article principal	259
4.2.7.2.	Le power point d'accompagnement.....	268
4.2.7.3.	Commentaires	270
4.2.7.	Influences potentielles.....	272
4.2.7.1.	L'article soumis	272
4.2.7.2.	Commentaires concernant l'article	290
4.2.7.3.	Age et densité en Demodex	292
4.2.7.4.	Relativisation des résultats.....	292
4.2.8.	Effets du traitement acaricide.....	295
4.2.8.1.	Les deux premières mesures ⁵⁶²	295
4.2.8.2.	L'épisode entier ⁵⁶³	301
5)	DISCUSSION	313
5.1.	Bilan	313
5.1.1.	Etudes préliminaires et méthodologiques, commentaires connexes	313
5.1.2.	Etude globale rétrospective.....	314
5.2.	Implications théoriques.....	315
5.2.1.	Physiopathogénie	315
5.2.1.1.	Arguments soutenant le rôle causal du Demodex dans la RPP	315
5.2.1.1. A.	Le Demodex est un agent pathogène	315
5.2.1.1. A.1.	Le Demodex libère des DAMPs (Damage-associated molecular patterns) qui stimulent l'immunité innée.....	315

5.2.1.1. A.2.	En tant que microorganisme, il est porteur de PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) stimulant l'immunité innée et d'antigènes stimulant l'immunité acquise.....	315
5.2.1.1. A.3.	Certaines déficiences immunitaires permettent sa prolifération excessive, suggérant que le système immunitaire sain contrôle sa prolifération :	316
5.2.1.1. A.4.	Le Demodex induit une immunotolérance : en inhibant l'immunité adaptative ?	317
5.2.1.1. B.	Le Demodex est le principal facteur causal de la RPP	323
5.2.1.2.	Sens de la relation causale ou Temporalité.....	324
5.2.1.2. A.	Au niveau moléculaire :	325
5.2.1.2. B.	Au niveau histologique :	325
5.2.1.2. C.	Au niveau clinique :	326
5.2.1.2. D.	Au niveau thérapeutique :.....	326
5.2.1.3.	Rôle causal du Demodex dans la rosacée oculaire.....	327
5.2.1.4.	Le Demodex et les principes d'attribution d'une cause à une maladie	328
5.2.1.4. A.	Le Demodex et les critères de Koch.....	328
5.2.1.4. B.	Le Demodex et les critères de Hill pour la causalité	331
5.2.1.4. C.	Le Demodex et le modèle de Rothman.....	333
5.2.1.5.	Hypothèse physiopathogénique : Schéma « uniciste » et recentré	335
5.2.2.	Nosologie.....	338
5.2.2.1.	La RET et le pityriasis folliculorum : différents mais connectés.....	338
5.2.2.2.	Démodécie pseudo-rosacée et RPP : deux facettes de la même maladie	340
5.2.2.3.	La RPP comme un des phénotypes de démodécie	342
5.2.2.4.	Proposition de refonte de la nosologie	342
5.3.	Implications pratiques	345
5.3.1.	Un test diagnostique est disponible.....	345
5.3.2.	Une seule maladie est à prendre en charge	345
5.3.3.	Des symptômes discrets aiguillent le diagnostic.....	346
5.3.4.	Le dépistage et le traitement des démodécies parmi les RETs est encouragé.	346
5.3.5.	Le dépistage des démodécies subcliniques est encouragé	346
5.3.6.	Un traitement efficace, étiologique et peu coûteux est proposé.....	347
5.3.7.	Le traitement systématique du cuir chevelu est envisagé.....	347
5.4.	Limites.....	348
5.5.	Perspectives	350

5.5.1.	Nosologie.....	350
5.5.2.	Comorbidités & réflexe cholinergique (anti-)inflammatoire.....	376
5.5.3.	Nouvelles questions.....	378
5.6.	Conclusion.....	381
6)	RESUME.....	383
7)	ANNEXES.....	385
7.1.	Taxonomie complète ²¹	385
7.2.	Distribution topographique des Demodex.....	386
7.3.	Immunologie & neurologie : notions connexes	387
7.3.1.	Tolérance immunologique.....	387
7.3.2.	Epuisement lymphocytaire	389
7.3.3.	Inflammation neurogène	391
7.3.4.	Réflexe neuro-immunitaire anti-inflammatoire	392
7.4.	Importance croissante accordée au Demodex.....	394
7.5.	Paramètres communs entre la rosacée et ses comorbidités.....	397
7.6.	Réactions suite aux publications.....	398
7.6.1.	Etude globale rétrospective.....	398
7.6.1.1.	Signes et symptômes.....	398
7.6.1.2.	RPP et démodécie pseudo-rosacée.....	400
7.6.1.2. A.	L'article a été l'objet du choix de l'éditeur dans son bilan annuel.....	400
7.6.1.2. B.	L'EADV nous a demandé de développer le sujet au 16ème congrès de l'EADV à Madrid en octobre 2019, à deux sessions différentes.....	400
7.6.1.2. C.	L'article a aussi suscité un commentaire, de Tatu, auquel nous avons répondu. Ce commentaire nous a donné l'occasion de préciser à nouveau certaines choses. 400	
7.6.1.3.	Démodécies subcliniques.....	404
7.6.1.3. A.	L'article a été l'objet de l'éditorial du BJD ⁷³	404
7.6.1.3. B.	Il a été l'objet d'un article dans le « dermatology times » :	406
7.6.1.4.	Traitement : les 2 premières mesures.....	408
7.6.2.	Articles le plus souvent cités.....	409
8)	REFERENCES.....	410

REMERCIEMENTS

En juin 2012, j'ai contacté le professeur Viviane DE MAERTELAER pour lui demander si elle pourrait effectuer le volet statistique d'une publication. Suite à notre tout premier contact téléphonique, elle pensait pouvoir régler le problème en une heure. Elle m'a donné rendez-vous pendant son heure de midi, et...a été un peu surprise : « ce que vous voulez publier là, ce n'est pas un article, mais c'est une thèse de doctorat...même deux thèses de doctorat ! » m'a-t-elle dit en souriant. C'est donc à elle que revient l'idée de la thèse. Ensuite, après avoir fait naître l'étincelle, ma bonne fée a étendu ses ailes protectrices sur ce long travail, en se chargeant du volet statistique, mais aussi par les incessantes discussions que nous avons eues : elle m'a accompagnée et encouragée au fil de toutes ces années et je la remercie très très chaleureusement.

Je remercie vivement le docteur (Dr) Karen PICKETT qui a assuré la correction des articles pour leur publication en anglais : bien plus encore que la langue, la forme et la synthèse, elle a également apporté son regard extrêmement aiguisé de critique scientifique. Elle a sans nul doute porté nos travaux : sans elle, ils n'auraient jamais été acceptés pour publication. Et je remercie donc ici aussi le professeur Véronique DEL MARMOL qui m'a suggéré l'idée de travailler avec le Dr Karen PICKETT.

Je remercie également tous les membres de mon comité d'accompagnement. Ils m'ont aidée à décomposer un problème complexe en plusieurs problèmes plus simples, ils ont discuté des façons d'aborder les analyses des données. Ils ont souvent joué l'avocat du diable, permettant de mettre le doigt sur un problème potentiel ou d'éclairer la manière de présenter les choses : tout d'abord mon promoteur, le professeur Marc PARMENTIER, mais également les professeurs Véronique DEL MARMOL, Caroline VERHOEVEN et bien sûr Viviane DE MAERTELAER. Je remercie Dr Sandra J. VAN VLIET, d'Amsterdam, pour avoir supervisé la Figure 92, basée principalement sur ses travaux (§ 5.2.1.1. A.4.a.).

Je remercie particulièrement le Dr Bruno SEYS, dont j'ai partagé la vie de 1979 à 2004, et qui a contribué énormément aux premières publications de par ses avis éclairés et ses solides compétences en épidémiologie et en statistiques : elles lui ont permis de se charger du volet statistique de celles-ci. Et, en 2002, il a élaboré les grilles d'encodage qui devaient servir à la collecte des données de l'étude globale.

Je remercie également mes collègues dermatologues qui m'ont suivie dans l'étude épidémiologique que nous avons réalisée ensemble en 2002-2003 : Marie-Anne GERMAUX, Thierry BRASSEUR, Anne DE LIEVER, Marianne LAPORTE, Chantal MATHYS, Jean-Jacques STENE, Sylvie THIBAUT, Muriel TYTGAT et Ursula SASS. Je

remercie le Dr Nicole BRUNEAU et à nouveau Chantal MATHYS qui ont consulté pour moi leurs vieux textbooks de dermatologie.

Je remercie tous mes collègues médecins traitants et dermatologues, qui ont entendu le message dès les premières heures, m'ont confié leurs patients et/ou ont suivi mes traitements, et particulièrement le Dr Silke EGGERS. Je remercie également le Dr Marc-Antoine SEPULCHRE qui a suivi l'avancement des travaux avec un intérêt tout particulier.

Je remercie le professeur André BOURLOND (Université Catholique de Louvain (UCL)) pour m'avoir proposé le Demodex comme sujet de recherche en 1983, le professeur Dominique TENNSTEDT (UCL) pour m'avoir initiée à la biopsie de surface en 1984, le professeur Marc HENROTAUX et ses collègues (Faculté de médecine vétérinaire de l'université de Liège, Cureghem), pour m'avoir documentée et renseignée sur l'importance du Demodex en médecine vétérinaire en 1984-85, le professeur Edouard GROSSHANS (Hôpitaux universitaires de Strasbourg) pour la documentation et les renseignements qu'il m'a donnés en 1984-85 ainsi que le professeur Georges ACHTEN (Université Libre de Bruxelles (ULB)) pour m'avoir acceptée dans son service et permis de continuer mes recherches sur le Demodex lors de ma formation en dermatologie de 1985 à 1989. Je remercie le professeur Diane ROSEEJW, qui m'a encouragée à répéter l'information que je voulais faire passer : « Pour qu'un message passe, il faut le répéter, et le répéter, et encore le répéter » m'a-t-elle appris.

Je remercie Monsieur Marc OKOKO, et Monsieur Patrick OPDENBOSCH, qui ont assuré le support informatique de ce travail, ainsi que les auteurs scientifiques et les firmes pharmaceutiques qui m'ont procuré une partie de ma bibliographie, principalement les firmes Janssens et Galderma.

Je remercie les patients qui ont accepté de se laisser photographier.

Je remercie mes parents, qui m'ont permis de faire mes études.

Je remercie Félix CALLEBAUT, qui partage ma vie depuis 2009 et essaie de me la rendre un peu plus équilibrée, en me « sortant de mon kot », tout en s'accommodant du drôle de hobby qu'a son épouse.

Enfin, je remercie mes trois enfants, Sophie, Bernard et François SEYS, qui ont dû partager leur maman avec une sorte de minuscule fréro, qui ne leur ressemblait pas du tout, mais à qui elle a consacré beaucoup d'heures de sa vie.

Merci à François d'avoir réalisé, lorsqu'il était enfant, lors d'un de ses ateliers de céramique, un magnifique Demodex en 3 dimensions (pas tout à fait bien proportionné il faut quand même le signaler !) qui fait désormais partie du décor du cabinet de consultation :

Merci à tous et aussi à ceux que je n'ai pas cités.



ABREVIATIONS

Ne sont reprises ici que les abréviations se retrouvant dans le texte.

Les abréviations propres à certaines figures sont indiquées dans la figure concernée.

α = alpha

Ag = Antigène

Ac = Anticorps

ACh = Acétylcholine

AChR = récepteur à l'ACh

β = bêta

BB = benzoate de benzyle

°C = degré Celsius

CD = cylindrical dandruff = squame cylindrique

CD3, CD4, CD8, etc : molécules de surface des cellules immunitaires

CD4⁺ = lymphocyte T auxiliaire = lymphocyte T Helper

CD8⁺ = lymphocyte T cytotoxique portant la protéine de surface CD8

CLM = confocal laser microscopy = microscopie confocale

CMH = Complexe Majeur d'Histocompatibilité

D = Demodex

DAMPs = Damage-associated molecular patterns = motifs moléculaires associé aux dommages

DC = dendritic cell = cellule dendritique

Dd = Demodex density = densité en Demodex

DLQI = Dermatology Life Quality Index = index de qualité de vie en dermatologie

Dr = Docteur

DRO = dérivés réactifs de l'oxygène = reactive oxygen species = ROS

EMA = European Medicines Agency = agence européenne des médicaments

FDA = Food and Drug Administration = administration (américaine) de l'alimentation et des médicaments

FTM= formulaire thérapeutique magistral

γ = gamma

IGA = Investigator's Global Assessment = évaluation clinique globale par l'investigateur

IL = interleukine

IPL = intense pulsed light = traitement par lumière pulsée intense

LL-37= cathélicidine LL-37

PI = iodure de propidium

μm = micromètre (1 micromètre = 10^{-6} mètre = 0,000 001 m = 0,001 mm = 1 micron)
min-max : minimum-maximum
MGL = récepteur Lectine type Galactose des Macrophages
NRS = National Rosacea Society = société américaine de la rosacée
PAMPs = Pathogen-associated molecular patterns = motifs moléculaires associés aux agents pathogènes/microbiens
PCR = polymorphous chain reaction = réaction de polymérisation en chaîne
PI = iodure de propidium
PD-L1 = ligand of programmed death 1 = ligand de la mort programmée
PPR-suggestive = papulopustules centro- faciales suggérant le diagnostic de rosacée papulopustuleuse
ROSCO = ROSacea COnsensus
RET = rosacée érythématotélangiectasique = rosacée avec seulement symptômes vasculaires
RPP = rosacée papulopustuleuse = rosacée avec papulopustules
SEM = standard error of the mean = erreur standard de la moyenne
SIDA = syndrome d'immunodéficience acquise
SNC = système nerveux central
SSB = skin surface biopsy = biopsie cutanée de surface
SSSB = standardized skin surface biopsy = biopsie cutanée de surface standardisée
SSSB1 = première biopsie cutanée de surface standardisée
SSSB2 = seconde biopsie cutanée de surface standardisée
TCR = récepteur du lymphocyte T
TGF- β 1 = facteur de croissance transformant bêta-1
Th = T Helper
TLR = Toll-like receptor = récepteur de type Toll
TLR2 = type 2 Toll-like receptor = récepteur de type Toll 2
Tn= antigène Thomsen nouveau
Treg = lymphocytes T régulateurs
TSLP = Thymic Stromal Lymphopoietin = lymphopoïétine stromale thymique
TTO = Tea Tree Oil = huile essentielle d'arbre à thé
UCL = Université Catholique de Louvain
ULB= Université Libre de Bruxelles
UV = lumière Ultra-Violette
VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VEGF-R1 = récepteurs type 1 du VEGF
VEGF-R2 = récepteurs type 2 du VEGF
VIS = lumière visible

PREAMBULE

« Doit-on considérer comme résolu le problème du Demodex, cet hôte fidèle de la peau ? Peut-on mettre un point final à cette question en se contentant de répéter, suivant les notions courantes les plus fréquentes, que le Demodex chez l'homme ne mérite aucune attention, car il est sans valeur pathogène ? »¹

C'est par cette question rhétorique que, en 1933, Françoise Fuss introduisait son remarquable article, intitulé « La vie parasitaire du *Demodex folliculorum hominis* ». Trente ans plus tard, en 1963 et 1967, le dermatologue Samuel Ayres Jr² et l'ophtalmologue Thullos Coston faisaient, chacun de leur côté, le même constat : Coston trouvait incroyable que les ophtalmologues de son époque n'aient jamais entendu parler du Demodex et faisait déjà remarquer que le parasite n'était mentionné que dans un seul manuel d'ophtalmologie et dans un seul article de la littérature ophtalmologique³ depuis 1929.⁴ Il faisait également part de l'attitude « illogique » des pathologistes de l'époque, qui, considérant le parasite innocent, ne le mentionnaient jamais, ce qui contribuait évidemment à ce que tous l'ignoraient.⁴ Pourtant, dès 1925, Marie Kaufmann-Wolf avait suspecté que le Demodex jouait un rôle majeur dans la rosacée,⁵ et dès 1930, Ayres avait décrit les principales démodécies.^{6,7} Mais leurs découvertes et hypothèses avaient toujours été très fortement controversées et n'avaient jamais été acceptées par le monde académique dermatologique.

Et, en 1983, 50 ans après le constat de Françoise Fuss, quand moi-même ai fait la connaissance du Demodex, la situation n'avait toujours pas évolué : le Demodex n'intéressait presque personne « puisqu'il était non pathogène », on n'en parlait même pas aux étudiants en médecine et donc, la plupart des médecins ignoraient que la peau humaine hébergeait un acarien. En fait, c'est cela même qui a piqué ma curiosité. Quand, suite à ma demande d'effectuer un travail de recherche en dermatologie, le professeur Bourlond de l'UCL m'a proposé le Demodex parmi 3 sujets possibles, j'ai instantanément été intriguée par ce petit parasite : il était incroyable de n'en avoir jamais entendu parler... alors que j'étais en 5^e année de médecine !...

A l'époque, le diagnostic de démodécie n'était quasi jamais posé, comme si la maladie, pourtant décrite au début du siècle, était tombée dans l'oubli : les patients qui abritaient des Demodex en grand nombre étaient considérés comme très exceptionnels, les publications sur le sujet étaient rares et les démodécies n'apparaissaient pas, ou fort discrètement, dans les manuels de références de dermatologie. Ainsi, dans le manuel américain « Dermatology » de 1975, il était juste indiqué que « dans la rosacée, ..., son rôle étiologique est douteux ; il est plus

probable qu'il soit non pathogène », et que « le parasite a été trouvé en grand nombre associé à l'acné ou la rosacée mais il n'y a pas de preuve convaincante qu'il contribue directement ou indirectement à une quelconque maladie ». ⁸ Dans le manuel anglais « Rook » de 1979, aucune mention n'en était faite dans le chapitre qui traitait de la rosacée et de la dermatite périorale, tandis qu'une demi page lui était réservée, de façon assez correcte en comparaison des autres manuels, dans le chapitre des dermatoses causées par les arthropodes (pathogénicité disputée, lien non clair avec la rosacée, démodécies et blépharites). ⁹ Enfin, quelques lignes dérisoires le mentionnaient dans le textbook français « Degos » de 1981 : « ...parasite trop fréquemment rencontré dans les biopsies...pour qu'on puisse admettre sans réserve qu'il est l'agent causal de l'acné rosacée, ou même qu'il peut en être un facteur aggravant... ». ¹⁰ Et, en 1994, dans un article de revue sur la physiopathogénie et le traitement de la rosacée, paru dans les Archives of Dermatology, Jonathan Wilkin ne le mentionne même pas. ¹¹

Edouard Grosshans, professeur de dermatologie à l'université de Strasbourg, était un des rares dermatologues à s'intéresser à ce parasite : il le soupçonnait de jouer un rôle dans la rosacée granulomateuse, suite à la pénétration du parasite dans le derme (§ 1.4.4.). ¹²

Au départ je me suis donc intéressée à une « curiosité académique », à un parasite sensé ne provoquer qu'exceptionnellement des problèmes, mais, au fil de mes premières années de pratique dermatologique, petit à petit, je me suis rendu compte qu'en fait, son importance était très nettement sous-estimée, car il concernait en réalité la dermatologie de tous les jours (§ 1.3.1.), et qu'un climat irrationnel/passionnel régnait autour de son rôle dans la rosacée (comme en témoignent certaines lettres aux éditeurs). ¹³ Ma tâche a donc été d'apporter des éléments scientifiques étayés dans ce climat passionnel : d'oser remettre en question l'opinion dominante, apparemment inchangée depuis 1933, ¹ de m'attacher uniquement à l'observation, à l'analyse objective et à la réflexion logique, bref, au raisonnement scientifique, et d'apporter, par toutes les voies possibles, de nouvelles informations permettant de mieux comprendre le rôle pathogène du parasite. Mes premiers travaux datent ainsi de bien avant le travail effectué ces dernières années en collaboration avec le professeur Viviane De Maertelaer : ils en sont les prémices (§ 3. Etudes préliminaires et méthodologiques).

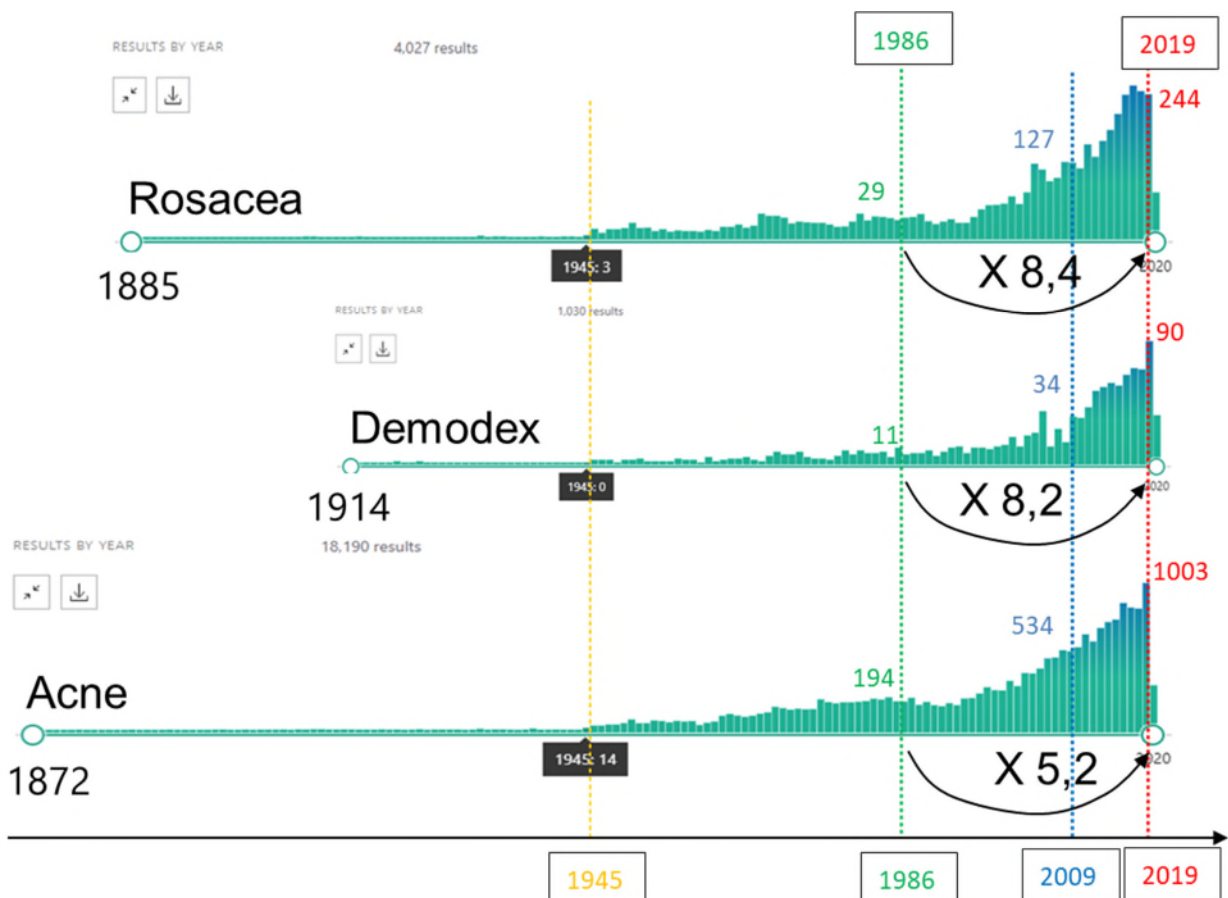
Très lentement, les choses ont commencé à bouger : le nombre de publications s'est mis à augmenter, surtout ces dernières années, à la fois en recherche fondamentale, clinique et thérapeutique. Ces 10 dernières années, les nombres annuels de publications concernant respectivement la rosacée et le Demodex se sont multipliés, grossièrement, par 2 et par 3 (Fig. 1). Nous pouvons

donc espérer que, très bientôt, le Demodex et la rosacée livrent leurs secrets et que les autorités dermatologiques admettent enfin le rôle pathogène clé de ce parasite dans la rosacée.

Fig. 1. Copie d'écrans montrant, au fil du temps, le nombre d'articles retrouvés par année, sur le site de PubMed pour la rosacée, le Demodex et l'acné en avril 2020.

Le mot clé « rosacea » fait ressortir 4027 publications (en haut), celui de « Demodex » en fait ressortir 1030 (au milieu), dont 247 sont communes (« Demodex and rosacea »).

Les premières publications relevées dans PubMed ont été publiées respectivement en 1885 pour la rosacée et en 1914 pour le Demodex. Quelques repaires de date (lignes verticales en pointillés avec date en encadré noir) accompagnées du nombre de publications relevées cette année-là ont été indiqués. A titre de comparaison grossière, entre 1986, date de mon premier article, et 2019, donc en 33 ans, le nombre d'articles trouvés s'est **multiplié par 8.4 pour la rosacée, par 8.2 pour le Demodex, et par 5.2 pour l'acné** (dont le nombre absolu de publications par rapport à la rosacée reste toutefois bien supérieur (étant passé de 7 à 4 fois supérieur)).



1) INTRODUCTION : CONTEXTE GENERAL

1.1. Le Demodex

1.1.1. Définition – classification

Le Demodex (D) est un petit acarien vermiforme permanent du follicule pilosébacé des mammifères.¹⁴ Il y vit exclusivement, et à tous les stades de son développement,^{14,15} d'où son nom, tiré du grec : **demós**, signifiant non seulement « peuple (δῆμος) » mais aussi « graisse/saindoux (δημόσιον) » et **dex**, signifiant « vers du bois » (δένδρον) (Owen 1843).^{14,16-19}

Du point de vue taxonomique, il est actuellement considéré comme faisant partie de l'embranchement des **arthropodes** (corps segmenté), du sous-embranchement des **chelicerata** (prosome+opisthosome), de la classe des **arachnides** (huit pattes, sans ailes ni antennes), de l'infra-classe des **acariens** (petite taille (0,1 à 0,6 mm), fusion du prosome et de l'opisthosome), de l'ordre des **thrombidiformes** (critères anatomiques compliqués),²⁰ du sous-ordre des **prostigmates** (ont normalement une paire de stigmates au niveau des chélicères, mais ce n'est pas le cas du Demodex...), de la famille des **Demodicidae**, du genre **Demodex** (taxonomie complète en annexe : § 7.1.).^{21,22} Cent quarante espèces de Demodex ont été décrites (dont 122 seulement seraient valides),²³ chacune **spécifique de l'hôte parasité**, aucune évidence de transfert inter-espèces n'ayant été réellement confirmée,^{24,25} bien qu'il soit suggéré que l'homme aurait peut-être reçu ses premiers *D brevis* lors de la domestication des loups.²⁶

1.1.2. Historique^{14,17-19}

Le Demodex est observé pour la première fois dans du cérumen humain en novembre 1841 par Berger en France (mais sa découverte n'est rendue publique qu'en mai 1845, suite à ses instructions, quand il est admis à l'académie des sciences et autorise l'ouverture de son document déposé en 1841).¹⁸ En décembre 1841, Frederick Henle, en Suisse, signale lui aussi ce « **ver** » dans une glande sébacée d'un conduit auditif humain. Henle est en outre le premier à décrire l'histologie de la peau humaine et pense que les maladies contagieuses sont causées par des microorganismes vivants. Un de ses étudiants, Robert Koch, prouvera ensuite que son intuition était correcte.

En mars 1842, le dermatologue allemand Carl Gustav Theodor Simon isole le parasite d'une glande sébacée, le décrit, dessine à l'appui, y compris **différents stades** de son développement (sans les ordonner) et le baptise « *Acarus folliculorum* », le classant correctement parmi les **acariens**. En décembre 1842,

Erasmus Wilson, un dermatologue anglais, soumet une description détaillée du parasite à Royal Society (London), qui sera révisée, puis publiée en 1845 : il note les différents aspects du parasite, et suggère déjà que **deux espèces** pourraient exister dans la peau humaine. En 1843, Richard Owen, anatomiste des vertébrés et premier directeur du British Museum, musée d'histoire naturelle de Londres, place le parasite dans son propre **genre, Demodex**. En 1844, Tulk décrit le *Demodex canis*.

En 1877, Jean-Pierre Megnin, un vétérinaire parasitologue français, décrit le *Demodex cati*. En 1908, Friedrich Gmeiner recense 14 espèces de Demodex décrites chez les **mammifères** sauvages et domestiques. En 1925, Marie Kaufmann-Wolf en Allemagne, suspecte le Demodex de jouer un rôle majeur dans la **rosacée**.⁵ En 1930 et 1933, Ayres, aux Etats-Unis, décrit les deux principales **démodécies**,^{6,7} et ensuite, sa vie durant, essaie de faire passer son message : à l'âge de 92 ans, il communique encore son savoir aux congrès de dermatologie.²⁷ En 1933, Françoise Fuss, en Suisse, décrit de façon fort pittoresque la vie « en société » des Demodex, constate que leur **prévalence est de 100%** pourvu qu'on se donne la peine de bien les chercher, et souligne leur probable **rôle pathogène**.¹

En 1961, S.G. Spickett, en Angleterre, décrit le **cycle vital** du *D. folliculorum*.²⁸ Suite aux connaissances acquises, il a déjà compris, en 1962, en véritable visionnaire, que dès le début de la rosacée, des conditions favorables sont créées pour favoriser la pullulation des Demodex, qui, à partir d'un certain niveau d'infestation, provoquent une inflammation responsable des symptômes. Il conseille donc un **traitement acaricide local de la rosacée** suffisamment long pour couvrir son cycle vital.²⁹

En 1963, Coston décrit la **blépharite à Demodex** comme une entité à part, montrant les Demodex émergeant des follicules à la base des cils.⁴

La même année, Frank French, aux USA, explique le cycle vital du *Demodex canis* et L. Akbulatova, en Russie, conclut que le pléomorphisme du parasite chez l'homme correspond à deux sous espèces, qu'il nomme respectivement « **D. folliculorum longus** » et « **D. folliculorum brevis** ». En 1972, aux USA, Clifford Desch et William Nutting montrent qu'il s'agit de **2 espèces distinctes**, avec chacune un habitat spécifique, et leur attribue les noms de **D. folliculorum** (Simon) et de **D. brevis** (Akbulatova).³⁰

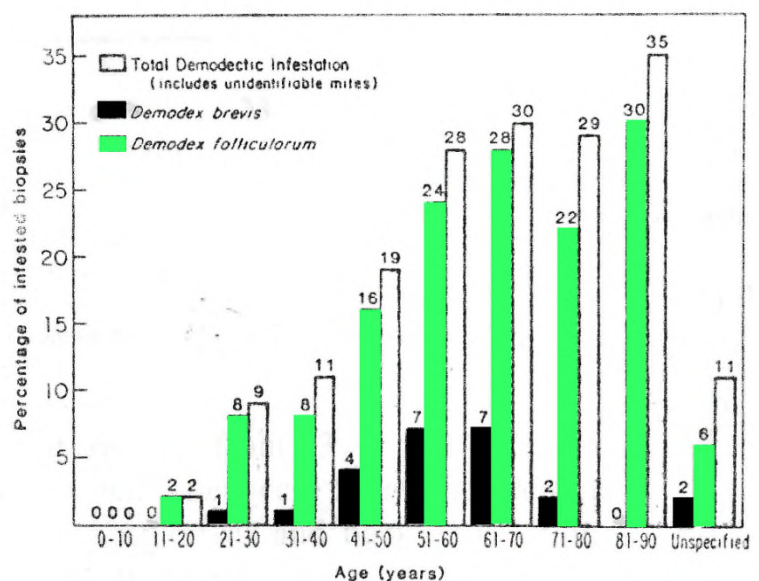
En 2007, en Chine, Ya-E Zhao *et al* émettent l'hypothèse qu'il existe 2 phénotypes de *D. folliculorum* et 2 phénotypes de *D. brevis*,³¹ puis, en 2011, ils en arrivent à la conclusion qu'il existe **3 phénotypes de D. folliculorum et 1 de D. brevis** (§1.1.5.).³²

1.1.3. Epidémiologie

Le Demodex est le seul ectoparasite permanent des follicules pilosébacés des humains et autres mammifères.^{14,22,25,33} Les études mesurant sa **prévalence** montrent qu'elle **augmente avec l'âge** (Fig. 2),^{19,34-44} mais aussi et surtout qu'elle varie en fonction de la méthode de détection utilisée.^{5,19,36-39,41,45-51} Si la méthode est suffisamment sensible/perspicace (par exemple en pratiquant jusqu'à 16 biopsies par cadavre,⁴⁶ ou en recherchant le parasite jusqu'à en trouver), une prévalence de **100%** est retrouvée à partir de 18 ans.^{1,14,26,30,35,36,40,47,52,53} Autrement dit, les études qui n'observent pas cette prévalence de 100% chez l'adulte utilisent en fait une méthode trop peu sensible pour la mettre en évidence (§ 1.3.3. et 3.8.).^{26,47,49,50,54,55} Et l'augmentation de prévalence observée avec l'âge chez l'adulte ne fait donc que témoigner de son **augmentation de densité avec l'âge**. Le même principe vaut pour les études qui montrent que la prévalence du parasite est plus grande chez les patients atteints de rosacée que chez les contrôles sains⁵⁶ et/ou les patients atteints d'acné :⁵⁷⁻⁵⁹ cette différence de prévalence n'est en fait qu'un reflet de la différence de densité. Dans la peau des enfants,³⁶ le Demodex est moins souvent retrouvé et sur les cadavres de nouveau nés, il n'est jamais retrouvé.^{34,53}

Il est observé dans toutes les populations étudiées à travers le monde,^{14,18,39} **essentiellement sur le visage, le cuir « chevelu »** (surtout quand les cheveux sont foncés ou le crâne chauve),³⁴ **et le cou**, moins sur le thorax et la partie médiane du dos,¹ et très rarement ailleurs.^{1,46,60} Le Demodex colonise donc les **zones riches en glandes sébacées et en sébum**, ce qui pourrait aussi expliquer sa moindre prévalence chez l'enfant chez qui les glandes sébacées sont moins développées.^{1,33,34,46} La distance plus grande entre les poils sur les membres que sur la tête, rendant périlleux son passage en surface, pourrait expliquer sa faible prévalence à ce niveau;³³ cependant, au niveau du thorax, malgré une faible densité de poils, le *D brevis* est retrouvé en haute densité.⁶⁰

Fig. 2. Prévalences des Demodex selon l'âge de l'hôte, exprimées en pourcentages de biopsies infestées : *D folliculorum* (en vert), *D brevis* (en noir), et leur somme (en blanc). Cette figure est reproduite et modifiée depuis « Aylesworth R, Vance JC. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 583-589». ³⁸



On peut donc considérer que le Demodex n'est pas présent à la naissance,⁵³ est acquis par contact direct avec les autres humains au cours de la vie, pour être finalement présent chez tous les humains adultes.^{1,36,40,47,52} Il serait ainsi le premier invertébré à avoir « marché » sur la lune ... en compagnie du premier cosmonaute !^{14,60}

Par ailleurs, une récente analyse phylogénique a montré que les populations de *D. folliculorum* sont génétiquement stables sur un même individu au fil des années, et le sont même au cours des générations, et ceci même s'il y a migration hors de la région d'origine.⁶¹ Elle indique que la transmission se fait très probablement plus au sein de la famille et entre époux qu'entre individus non reliés, indiquant la nécessité d'un **contact direct**.^{33,61} Ainsi, l'évolution de *D. folliculorum* représente un excellent moyen pour étudier l'histoire des migrations humaines : les premières observations reflètent des divergences anciennes compatibles avec l'hypothèse de la migration des premières populations au départ de l'Afrique.⁶¹

1.1.4. Anatomie^{15,25}

1.1.4.1. **Anatomie externe**

Le Demodex est un petit acarien vermiforme de 0,3 à 0,4 mm (300 à 400 µm) de long (Fig. 3), incolore et transparent, et dépourvu de poils. Tout son corps est recouvert d'un exosquelette chitineux. Il est composé d'une partie antérieure rigide, le prosome ou céphalothorax, et d'une partie postérieure flasque, l'opisthosome ou abdomen.

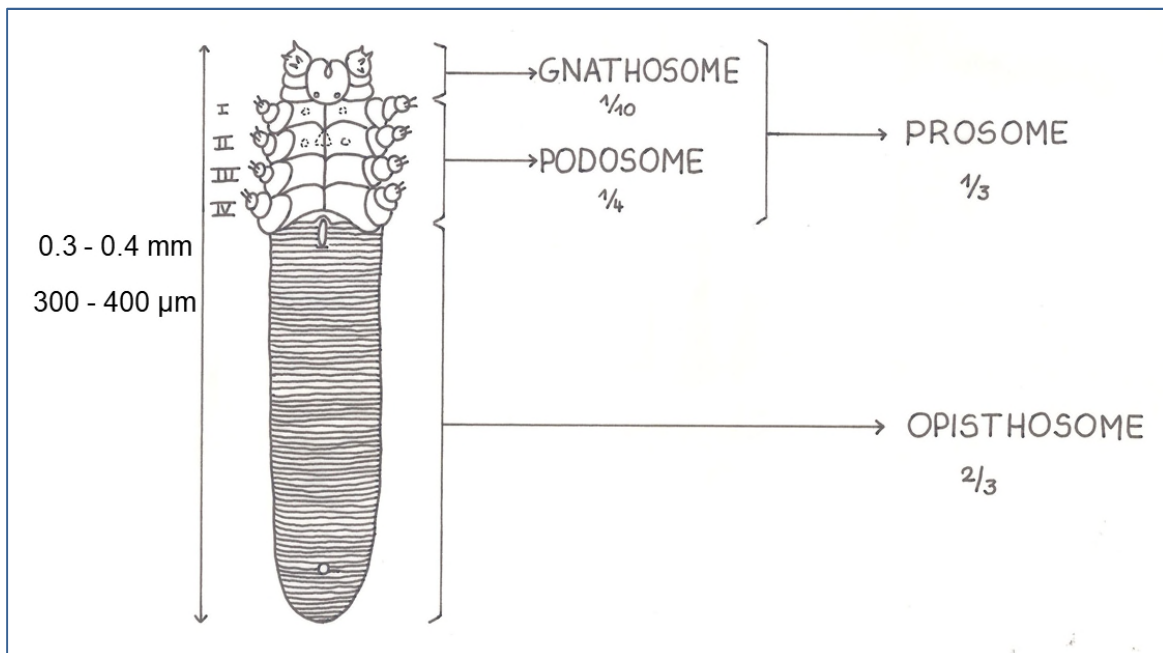


Fig. 3. Représentation schématique d'un *Demodex folliculorum* femelle en vue ventrale. La vulve est située juste au début de l'opisthosome.

Le prosome se subdivise en gnathosome (ou rostre) portant les parties buccales, et un podosome portant les 4 paires de palpes moteurs (ou pattes). **Le gnathosome** comporte 2 pédipalpes (structures antérieures et latérales fort mobiles, terminées par 5¹⁵ à 7⁶² griffes) avec lesquelles le parasite rompt les cellules de l'hôte et racle leur surface interne, et un orifice buccal (fente de 1 µm de large sur 8 à 10 µm de long) (Fig. 4).

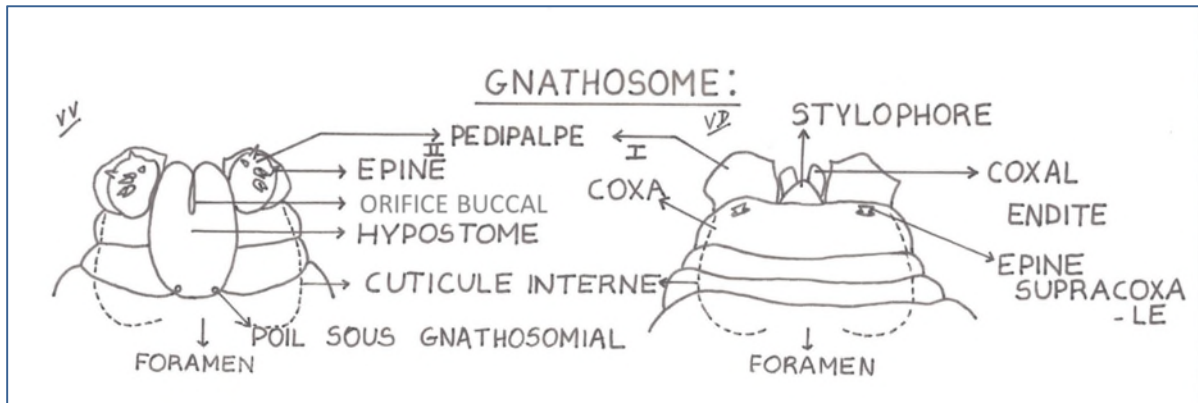
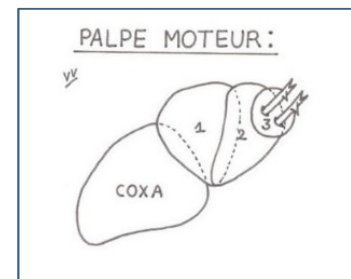


Fig. 4. Représentations schématiques du **gnathosome du *Demodex*** en vue ventrale (VV) et vue dorsale (VD).

Le **podosome** porte 4 paires de **palpes moteurs** (Fig. 5), observés sur sa surface ventrale : ils permettent au *Demodex* de se déplacer à une vitesse de **8 à 16 mm par heure** (déplacements sur gel visibles dans la Fig. 24b dans le § 1.1.6.).

Fig. 5. Représentation schématique d'un **palpe moteur** en vue ventrale (VV). Chaque palpe moteur est composé d'un coxa proximal fixe et de 3 segments mobiles articulés, le dernier étant terminé par 2 griffes. Chaque griffe porte un éperon et une extrémité distale bifide.



Notons que les acariens ont d'habitude 6 segments par patte : le *Demodex* a donc peu de segments, probablement parce qu'il vit dans un follicule étroit. Du point de vue fonctionnel, les mouvements des palpes ressemblent aux mouvements des pattes d'une tortue : ils peuvent totalement se rétracter dans le podosome et semblent désignés pour déplacer le *Demodex* vers l'avant.¹⁵ Lorsque le palpe va d'avant en arrière, le palpe s'étend et parcourt donc un arc de grand rayon, propulsant le parasite vers l'avant, tandis que lorsqu'il retourne vers l'avant, le palpe est fléchi et offre donc peu de résistance.⁵⁴

Avec ses pattes, il abîme la glande sébacée,⁵² et probablement aussi la paroi du follicule,⁶⁰ comme le fait l'*Ophthalmodes apodemi* (Fig. 6) :^{15,63} la kératine ainsi produite s'accumule, contribuant à l'hyperkératose bouchant partiellement les orifices pilaires (§1.3.2.).⁶⁰

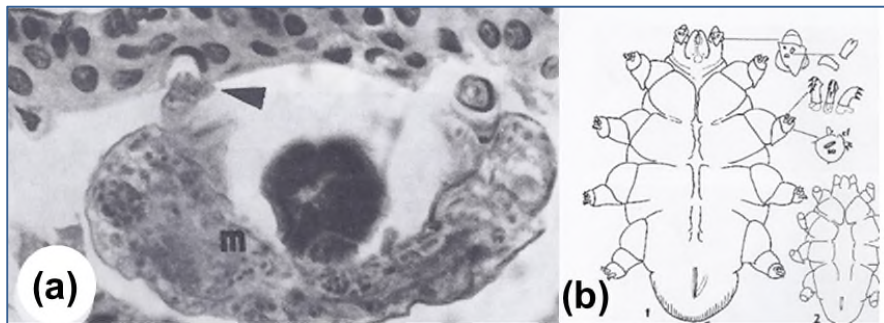


Fig. 6. (a) Coupe histologique transversale dans un canal lacrymal de souris (*Apodemus Sylvaticus*) : un acarien apparenté, lui aussi de la famille

des demodicidae, l'*Ophthalmodex apodemi*, est surpris **en train d'abîmer l'épithélium avec ses palpes moteurs** (flèche noire).

(b) Représentation schématique d'un *Ophthalmodex apodemi* en vue ventrale. Figures reproduites depuis « Bukva V, Nutting WB, Desch CE. Description of *Ophthalmodex Apodemi* SP.N. (acari: demodicidae) from the ocular area of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: muridae) with notes on pathogenicity. Internat J Acarol 1992; 18: 269–76. »

Le **podosome** a une surface dorsale annelée et, chez le mâle, porte une protubérance en forme de volcan abritant un pénis pointu et chitineux (Fig. 7), ainsi que 4 tubercules podosomaux (protubérances considérées comme organes sensoriels associées à l'organe génital mâle, et atrophiées chez la femelle). **L'orifice génital mâle** est une fente de 5 µm de long, située au sommet de la protubérance. Le **pénis** est composé de 2 parties : un dard effilé et sa gaine. Quand le pénis est dans le podosome, le dard est étroitement apposé contre sa gaine, mais quand il fait protrusion, en position de fonction, la gaine s'éloigne du dard et permet ainsi le passage du sperme.

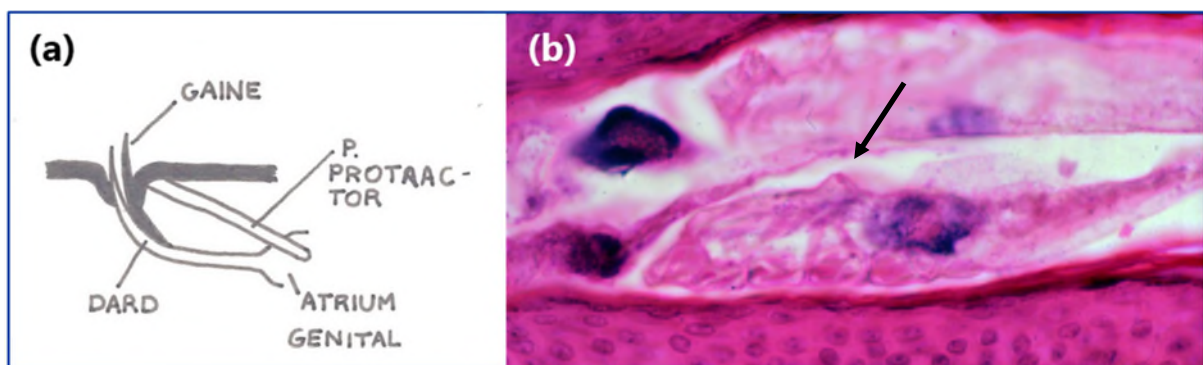


Fig. 7. (a) Représentation schématique de l'**organe génital mâle** du Demodex en coupe sagittale (avec le muscle « pénis (p) protactor »).

(b) Coupe histologique longitudinale d'un infundibulum pileaire, contenant plusieurs Demodex dont, en bas à gauche, une forme immature et, en bas au centre et à droite, un Demodex (*D folliculorum* probable) en coupe sagittale : la **protubérance triangulaire abritant le pénis, située sur le dos**, à la hauteur de sa troisième paire de pattes, est bien visualisée (flèche noire) (hémalun-éosine-safran) (x 200).

L'opisthosome constitue la moitié de la longueur chez le *D brevis* jusqu'à 7/10^{ème} de la longueur du *D folliculorum* (phénotype long) (§ 1.1.5.). Contrairement à celui des autres acariens, il ne porte pas de poils. Il est strié transversalement, tous les 2 µm, ce qui correspond à une variabilité d'épaisseur de l'endocuticule, et non à une métamérie (§ 1.1.4.2. A). Chez la femelle, 2 orifices sont présents sur l'opisthosome : **l'orifice génital femelle** (vulve, sous forme d'une fente de 9 µm de long située à la face ventrale de l'opisthosome, sur la ligne médiane, juste derrière la quatrième paire de patte) et l'orifice de **l'organe opisthosomial** (simple invagination tubulaire médiane ventrale, dans le tiers postérieur de l'opisthosome, entourée de cellules riches en mitochondries) qui est considéré comme un organe respiratoire, présent uniquement chez la femelle adulte de *D folliculorum*, absent chez le *D brevis* (Fig. 8).

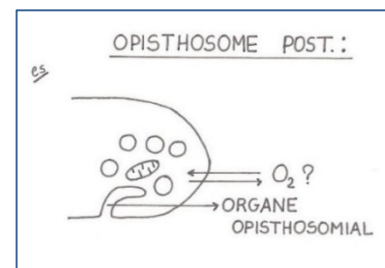


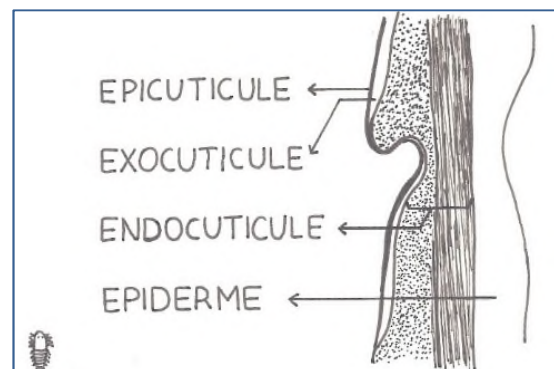
Fig. 8. Représentation schématique, en coupe sagittale (CS), de **l'extrémité distale de l'opisthosome** du *D folliculorum* femelle, avec l'organe opisthosomial.

1.1.4.2. Anatomie interne

1.1.4.2. A. L'enveloppe

L'enveloppe du Demodex est constituée d'une cuticule ou exosquelette et d'un épiderme, interne (Fig. 9).

Fig. 9. Représentation schématique des différentes **couches de la cuticule** du Demodex au niveau de son opisthosome, en coupe longitudinale.



La cuticule est composée de dépôts successifs produits par l'épiderme et est relativement imperméable aux grosses molécules bien qu'elle permette manifestement les échanges aqueux et gazeux.⁶⁴ Son épaisseur varie de 0.5 µm au niveau de l'opisthosome à 2 µm sur le dos du podosome, les endroits où s'insèrent beaucoup de muscles étant plus épais. La cuticule des formes immatures est plus mince que celle des formes adultes. Elle est composée de 3 couches : **l'épicuticule** (la plus fine et la plus externe, constituée en partie de lipides), **l'exocuticule** (de nature protéique, apporte de la flexibilité à l'exosquelette et est le constituant majeur de la cuticule des pattes et épines diverses) et **l'endocuticule** (de nature mucopolysaccharidique, vraisemblablement chitineuse).⁶⁴ Celle-ci est constituée d'une couche de fibres circulaires externes et d'une couche de fibres longitudinales internes. Alors que les fibres longitudinales forment une couche uniforme tout au long de l'opisthosome, la quantité de fibres circulaires varie périodiquement, ce qui

est responsable de l'aspect annelé du Demodex. Ces striations, étant asymétriques et orientées vers l'arrière, joueraient un rôle de **harpon**, empêchant le Demodex d'être reflué vers l'ostium folliculaire par le flux de sébum (Fig. 9).

L'épiderme est constitué d'une seule couche de cellules aplaties, apposées contre l'exosquelette.

Au niveau du gnathosome, le Demodex présente **2 enveloppes** : une cuticule externe, flexible et basophile, décrite ci-dessus, et une cuticule interne, non flexible et acidophile, qui s'ouvre vers l'arrière par un foramen ovale de 9 µm de diamètre au travers duquel passent les structures qui se continuent dans le podosome : cette double composition permet au gnathosome de se rétracter partiellement dans le podosome sans distorsion des structures internes de la capsule (Fig. 4).

1.1.4.2. B. Les systèmes cardiovasculaires et pulmonaires

Ces systèmes sont absents chez le Demodex. Les gaz s'échangent donc probablement par diffusion à travers la cuticule et, vu la position du parasite dans le follicule, essentiellement par la partie distale de l'opisthosome (Fig. 8) : cette partie riche en mitochondries serait le site de stockage d'énergie, sous forme de gouttelettes lipidiques dans les cellules de type II du tube digestif.

1.1.4.2. C. Le système digestif

L'orifice buccal, décrit ci-dessus (Fig. 4), se continue par un canal étroit, la **cavité préorale** qui contient sur son plancher **deux fins stylets** : ceux-ci se projettent vers l'avant, s'effilent et se rapprochent l'un de l'autre ; à l'arrière, ils se courbent vers l'avant et le haut et vont s'attacher à un soutien triangulaire, le **fulcrum** (Fig. 10). La mobilité des stylets est assurée par 2 paires de muscles : 2 muscles protracteurs, qui font sortir les stylets lorsqu'ils se contractent, et 2 muscles rétracteurs, qui font rentrer les stylets lorsqu'ils se contractent.

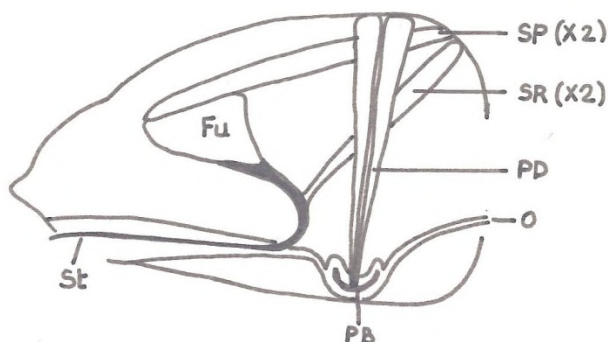


Fig. 10. Représentation schématique longitudinale du début de l'appareil digestif du Demodex, à l'intérieur du gnathosome.

St : stylet ; Fu : fulcrum ;
SP : muscles protracteurs du stylet ;
SR : muscles rétracteurs du stylet ;
PD : muscle dilatateur du pharynx ;
BP : bulbe pharyngé.

Les stylets se projettent en dehors en bas et en avant et ont apparemment pour fonction de ponctionner les cellules hôtes. Une fois les cellules percées, leur contenu est probablement prédigéré, grâce aux **sécrétions enzymatiques** des glandes salivaires (protéases,⁶⁵ lipases⁶⁶) avant d'être aspiré sous forme de liquide.

Les 2 glandes salivaires sont constituées de 6 à 8 cellules aplaties contenant surtout des vacuoles claires et sont situées de part et d'autre du synganglion (cerveau) (Fig. 11). Le **cytoplasme prédigéré** des cellules hôtes est ensuite aspiré par le **bulbe pharyngé** : celui-ci, en forme de croissant, fait suite au canal alimentaire et exerce une pulsation à intervalles réguliers, grâce à un muscle bifide, le **dilatateur du pharynx**, qui se contracte (Fig. 10).

Le bulbe pharyngé se continue par un canal étroit (0.5 µm de diamètre), l'**œsophage**, qui monte, passe par le foramen, traverse le podosome et le synganglion vers le haut et l'arrière et se termine par une extrémité borgne (Fig. 11). Le Demodex n'a en effet ni anus, ni appareil excréteur : on pense donc que les **déchets** s'accumulent durant la vie du parasite car ils ne peuvent être ni régurgités, ni expulsés à travers la cuticule.

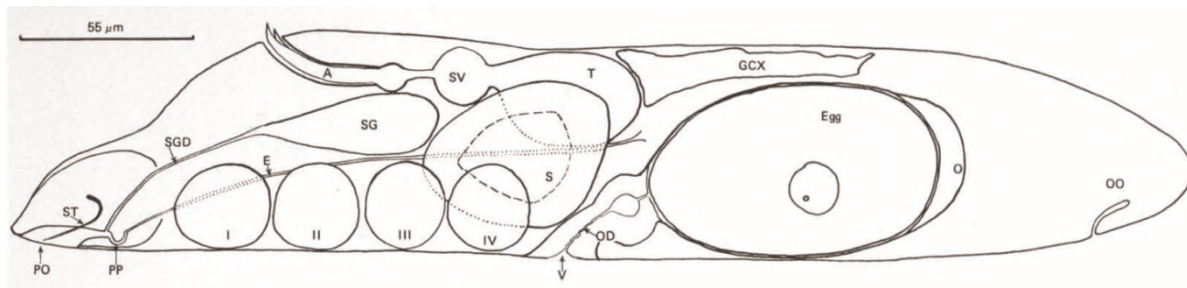


Fig. 11. Représentation schématique de l'anatomie interne du Demodex spp (spp = de plusieurs espèces), rassemblant en un seul schéma les caractéristiques mâles et femelles (qui sont, dans la réalité, séparées, le Demodex n'étant pas hermaphrodite), montrant, par ordre alphabétique : A = pénis, E = œsophage, Egg = œuf, GCX = cellules du tube digestif avec cristaux, O = ovaire, OD = oviducte, OO = organe opisthosomial (fonction inconnue), PO = cavité préorale, PP = pompe pharyngée, S = cerveau, SG = glande salivaire, SGD = canal de glande salivaire, ST = stylets, SV = vésicule séminale, T = testicule, et V = vulve. Les chiffres romains désignent les bases des pédipalpes. Cette figure est reproduite depuis "Nutting WMB et al. Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. Journal of Biological Education 1979; 13: 315-21".²⁵

Initialement, deux types de « cellules digestives » ont été décrites : les **cellules de type I**, contenant des petites vacuoles d'ingestion, des petits granules bruns à l'hématoxyline éosine et des inclusions d'allure cristalline qui ont longtemps été prises pour des cristaux non solubles stockant les déchets du parasite, la quantité de « déchets » étant divisée en 2 juste avant la formation de l'embryon. La moitié transférée à l'œuf était supposée servir de substrat au dépôt de résidus de l'embryon et des stades suivants, et diminuer la masse de résidus des femelles, ce qui pouvait expliquer leur plus longue durée de vie par rapport aux mâles.⁶⁴ Les **cellules de type II** contiennent beaucoup de gouttelettes lipidiques : celles-ci représentent probablement une forme de stockage d'énergie.¹⁵ Une autre hypothèse est que le **contenu des cellules digestives, granulaire brun ou transparent**, serait plutôt

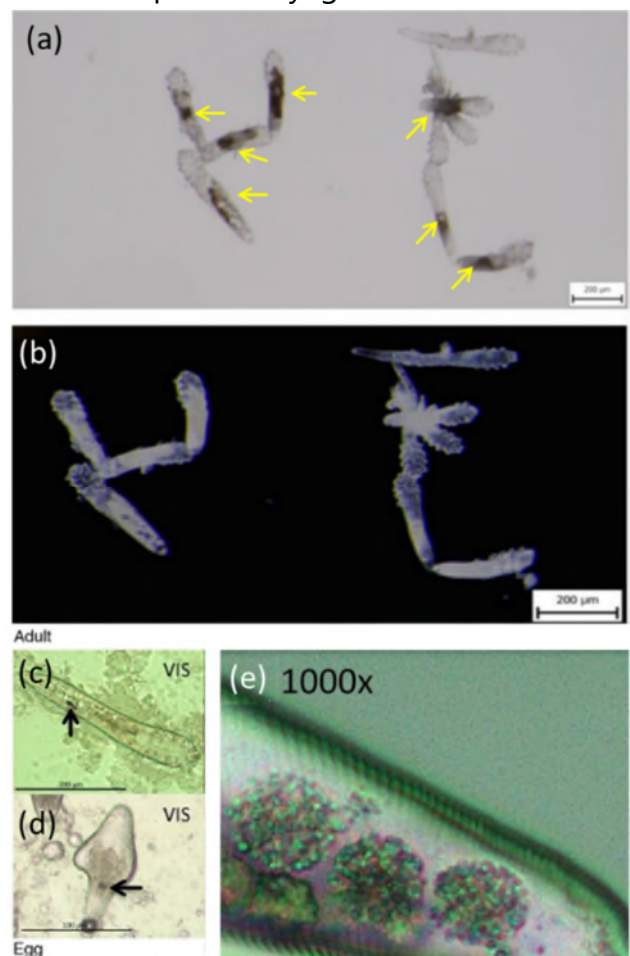
déterminé par l'alimentation du parasite dans son biotope : le contenu granulaire correspondrait aux résidus de l'épithélium folliculaire ingéré, tandis que les gouttelettes transparentes lipidiques correspondraient à ceux des cellules sébacées.³²

Très récemment, Clanner-Engelshofen *et al* ont montré que certains de ces grains denses sphériques, disposés en petit amas noirâtre, correspondraient à des corynébactéries lipophiles, qui seraient une sous-espèce de ***Corynebacterium kroppenstedtii***.⁶⁷ Ces bactéries seraient des **endosymbiontes du Demodex**, qui, intégrées à leur système digestif, entretiendraient des relations symbiotiques avec le Demodex : elles l'aideraient à digérer son substrat alimentaire lipophile, elles abriteraient une partie du génome indispensable au parasite et seraient transmises en partie à la génération suivante afin d'y jouer le même rôle.⁶⁷ Ces bactéries semblent indispensables à sa survie, car elles correspondent à une fluorescence⁶⁸ qui diminue quand il se meurt.^{67,69,70} Cependant, Foley *et al* font remarquer que ces grains denses au centre de l'opisthosome (Fig. 12) ne sont pas toujours visualisés dans les Demodex au microscope.⁷¹ Par ailleurs, des bactéries type corynébactérie avaient déjà été photographiées en 1992 par microscopie électronique à balayage au niveau du gnathosome du Demodex (Fig. 13).⁷²

Fig. 12. (a et b) : Demodex au microscope en champ clair (a) et en champ sombre (b). Les Demodex montrent une **auto-fluorescence** lors de l'examen en champ sombre, essentiellement au niveau de l'**enveloppe** (attribuée à l'épicuticule)⁶⁸ et d'une **zone centrale de l'opisthosome** apparaissant foncée en champ clair (flèches jaunes dans (a))(barre d'échelle : 200 µm).⁶⁹ **(c et d) : Spécimen adulte (c) et embryon (d) de *D folliculorum* portant un "inoculum bactérien"** (flèche noire) (barre d' échelle : 200 µm pour (c) et 100 µm pour d).

(e) Zoom numérique des "sphères bactériennes" de *Corynebacterium kroppenstedtii* subsp.

Cette figure est construite à partir de photographies de deux articles différents : (a) et (b) proviennent de « Lacey N *et al*. Study of Demodex mites: Challenges and Solutions. J Eur Acad Dermatol Venereol 2016; 30: 764–775»⁶⁹ ; (c), (d) et (e) proviennent de : « Clanner-Engelshofen BM *et al*. *Corynebacterium kroppenstedtii* subsp. demodicis is the endobacterium of *Demodex folliculorum*. JEADV 2020 ; 34:1043-1049»⁶⁷



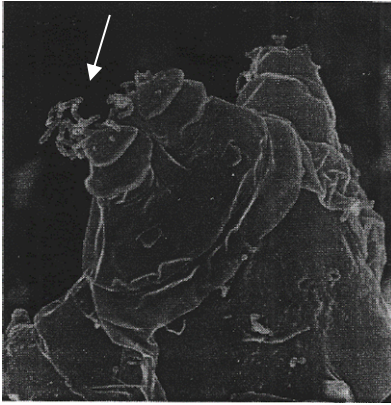


Fig. 13 : Nombreuses bactéries, devant le gnathosome du Demodex, correspondant vraisemblablement à des Corynebacteries (flèche).⁷²

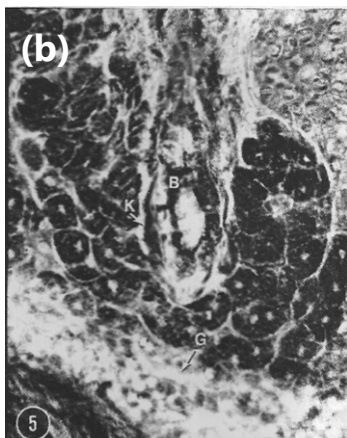
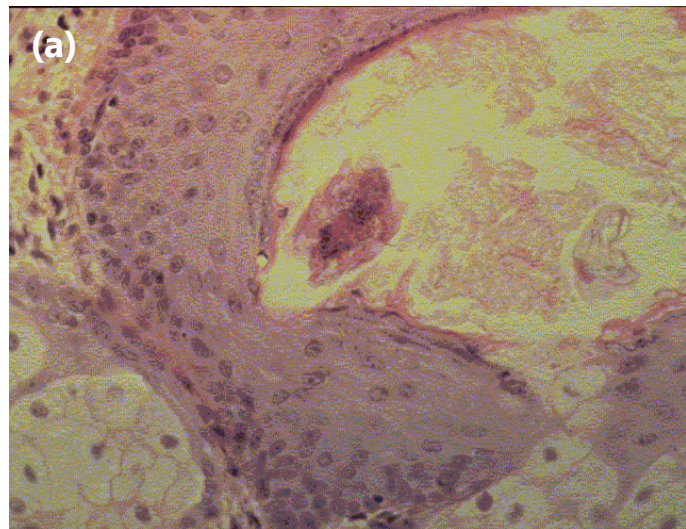
Photographie reproduite depuis « Tritten JJ. [Should one mention blepharitis due to *Demodex folliculorum* ?]. Rev Med Suisse Romande 1990; 110: 545–548 ». ⁷²

Dans la littérature médicale, il est souvent écrit que le Demodex se nourrit de sébum^{72,73} (pauvre en azote), ce qui est une erreur : il en ingère certainement au passage,

mais **il se nourrit essentiellement des cellules de l'hôte, et exerce donc une action abrasive sur l'épithélium.**^{14,54,60,74} En effet :

- la différenciation de son gnathosome montre qu'il est fait pour percer les cellules de l'hôte, les vider, les digérer et aspirer le produit de cette digestion (§ 1.1.4.2.C., Figs. 4, 10 et 11) ;
- il est retrouvé systématiquement avec son gnathosome apposé contre l'épithélium, à tous les stades de son développement, de la larve à l'adulte (Fig. 7 b);^{47,60,74}
- cet épithélium (folliculaire et glandulaire) en regard de son gnathosome est détruit, brouté (Fig. 14),^{14,52,75,76} jusqu'à ce qu'il se rapproche dangereusement de la membrane basale,^{60,75,77} et parfois même la perfore (§ 3.1.) ;^{12,14,52,78–80}
- aucun Demodex n'a jamais été observé dans le sébum d'un kyste épidermique.

Fig. 14. (a) : Coupe histologique transversale dans un canal pilosébacé humain, près de l'abouchement d'une glande sébacée, contenant un Demodex en coupe oblique. Juste en face de l'acarien, **l'épithélium canalaire est grignoté, la couche granuleuse a disparu, témoignant du mode alimentaire du parasite.** (hémalun-éosine-



safran)
(x
475).⁷⁵

(b) : Coupe histologique oblique dans un *D brevis* (B) dans une glande sébacée : il a envahi la kératine et pénétré jusqu' à la couche germinative (G).

Figure reproduite depuis « Nutting WB *et al.* Topology and histopathology of hair follicle mites (demodicidae) of man. Progress in Acarology, 1989; 1: 113-121 ». ⁶⁰

Seuls les embryons, ne possédant pas de stylets, pourraient se nourrir uniquement de sébum (Fig. 15).

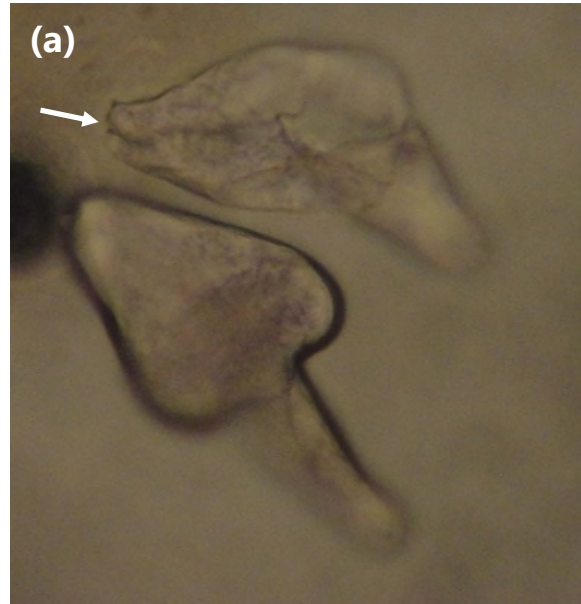
Fig. 15. Embryons de *D folliculorum* dans une biopsie de surface (§ 3.2.).

(a) : Deux embryons :

- celui du bas est vu de face, et présente la classique forme **en tête de flèche**,
- celui du haut est vu de profil.

Son orifice buccal (flèche blanche) se continue par son œsophage vers le haut et la droite.

(b) : L'embryon du haut sur l'image (a) est photographié ici avec une autre profondeur de champ : **des structures pointues ressemblant à de petites dents apparaissent dans la cavité orale** (flèche blanche) (observation personnelle non publiée).



1.1.4.2. D. Le système musculaire

Le Demodex possède **une centaine de muscles**, probablement unicellulaires, dont les insertions sont décrites.¹⁵ Chaque chef musculaire contient un ou deux sarcomères, composées de myofibrilles bien organisées, comme dans un muscle squelettique humain, mais ne montrent cependant pas de striations.

1.1.4.2. E. Le système nerveux

Le **synganglion** (= cerveau) s'étend du niveau du palpe moteur III jusqu'au 20^{ème} µm de l'opisthosome (Fig. 11) : il s'élargit vers l'arrière en même temps qu'il devient bilobé. Il est traversé de part en part par l'œsophage et est composé d'une partie centrale (**neuropile**), constitué de fibres nerveuses et de synapses et d'une partie périphérique, le **cortex**, constitué de 1 à 6 couches de cellules d'après les régions, sans cellules gliales.

1.1.4.2. F. Le système génital (Figs. 7 et 11)

Chez le mâle, un **testicule** unique de 20 μm se situe dans le tiers antérieur de l'opisthosome. Les **gamètes** se différencient en cheminant vers la partie antérieure du testicule, sans flagelle, mais par un mouvement amiboïde. Elles arrivent dans la **vésicule séminale**, située au-dessus du synganglion, entre ses 2 lobes. Celle-ci est bordée par un épithélium, une membrane basale et une couche de fibres musculaires circulaires, permettant de presser les gamètes dans le pénis chitineux très étroit, de telle sorte qu'elles n'y passent qu'une à la fois, en file indienne, et ne sont donc pas transmises à la femelle sous forme d'un spermatophore.

Chez la femelle, un **vagin** de 10 μm de long monte juste au-dessus de la vulve, sous le synganglion, et ensuite s'élargit pour former le **réceptacle séminal**, aire de stockage des gamètes mâles. Celui-ci se continue par l'utérus. L'**ovaire** unique se situe à l'arrière et sous le synganglion. Il possède entre 14 et 21 œufs qui mûrissent un à la fois. L'oocyte formé quitte l'ovaire et va dans l'utérus où il grandit, des corps jaunes se formant dans son cytoplasme. Il finit par occuper la moitié antérieure de l'opisthosome. L'embryon est orienté avec sa queue vers l'arrière (Fig. 16). Lorsqu'il a atteint sa taille maximale (42 μm de large sur 105 μm de long), il est pondu au travers de la vulve de 9 μm , qui doit fortement se distendre. Le système génital femelle ne possède pas de muscles intrinsèques : la ponte se fait donc uniquement par les muscles de la paroi.

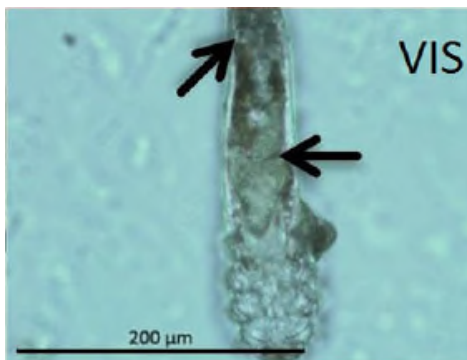


Fig. 16. *D folliculorum* femelle enceinte : l'embryon en tête de flèche (flèche droite horizontale) est présent à la partie antérieure de son opisthosome, la tête vers l'avant, prêt à sortir par la vulve (barre d'échelle : 200 μm). Cette photographie est reproduite depuis l'article « Clanner-Engelshofen BM *et al.* *Corynebacterium kroppenstedtii* subsp. *demodicis* is the endobacterium of *Demodex folliculorum*. JEADV 2020 ; 34:1043-1049.⁶⁷

1.1.4.3. Interprétations fonctionnelles

Au terme de cette description, le Demodex apparaît comme un **champion de l'adaptation**.^{24,54} D'une part, la forme de son corps est parfaitement adaptée à la forme de son habitat. D'autre part, l'importance de son tube digestif, la différenciation de son gnathosome et la disposition de son œsophage au milieu de son système nerveux central (SNC) indiquent que **le Demodex est un organisme dont la fonction principale est le broutage**.¹⁵ Son anatomie ne nous donne aucun indice d'une éventuelle utilité qu'il pourrait avoir dans la peau de son hôte : à ce jour, on ne lui en connaît pas.⁸¹

Cette différenciation extrême est responsable de l'extrême spécificité du parasite et de son extrême dépendance vis-à-vis de son hôte. Chaque mammifère a son espèce propre de Demodex. Le Demodex ne se retrouve pas dans le milieu extérieur, la mort du Demodex survenant dans les quelques heures qui suivent son extraction hors de son hôte¹⁹ ou dans les premières semaines qui suivent la mort de son hôte,¹⁸ des parasites vivants ayant quand même été retrouvés dans la peau d'un cadavre 14 jours après le décès !⁸² Le Demodex n'a pas encore pu être cultivé et il se transmet uniquement par contact direct. Sa structure correspond donc bien à sa nature de **parasite obligé**.^{15,25}

1.1.5. *Demodex folliculorum* et *Demodex brevis*

Dans la peau humaine, deux espèces de Demodex sont classiquement observées (Figs. 17 à 19) : le *D folliculorum*, une forme longue qui vit dans le canal pilo-sébacé, et le *D brevis*, une forme plus courte qui habite la glande sébacée et la glande de Meibomius.^{14,30,47,60} Quand ils prolifèrent exagérément, les *D folliculorum* ont tendance à vivre en société : dans le follicule dilaté, s'observe « toute une colonie composée de mâles et de femelles de tous âges, de nymphes,...d'œufs, tous étroitement serrés et unis par le sébum »,¹ comme des sardines dans une boîte.⁴ Les *D brevis*, eux, vivent plutôt en solitaires, dispersés chacun dans les différents lobules des glandes sébacées (§ 3.1. : Figures 2b et 5 de l'article⁷⁵).³⁸

Fig. 17. Schéma d'un follicule pileux humain infesté par les 2 espèces de Demodex.

Abréviations :

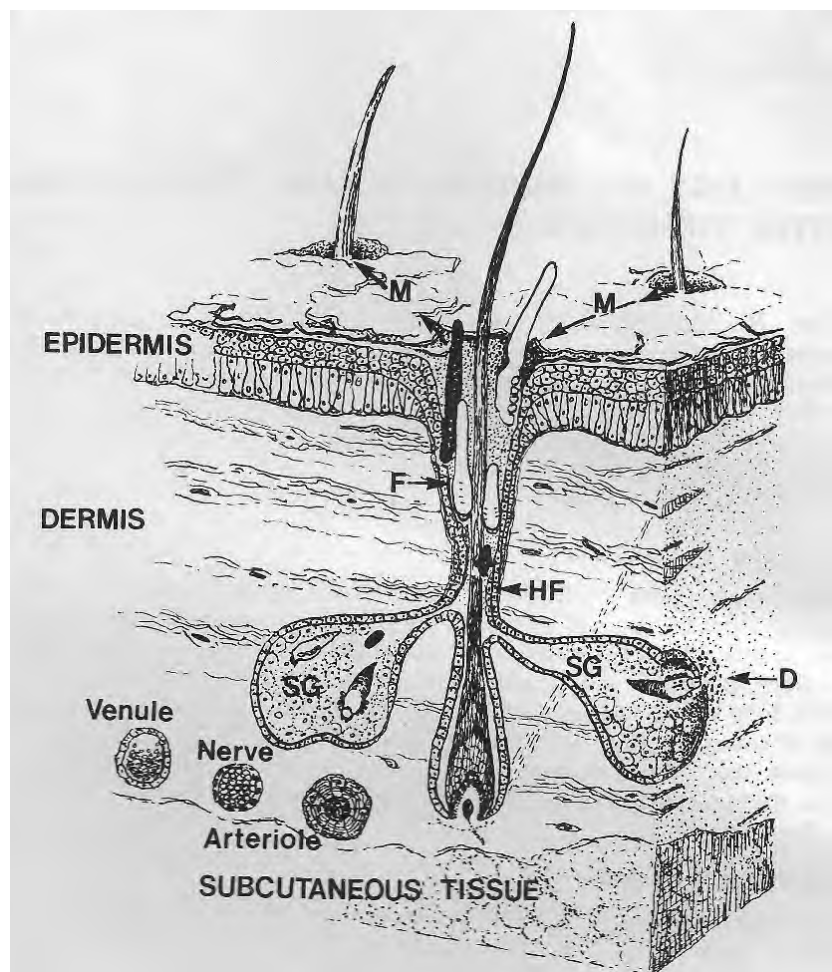
F= follicule distendu

HF = follicule pileux

M= migration en surface

SG= glande sébacée.

Schéma reproduit depuis « Nutting, WB et al. Topology and histopathology of hair follicle mites (demodicidae) of man. Progress in Acarology. 1989; 1: 113-121». ⁶⁰



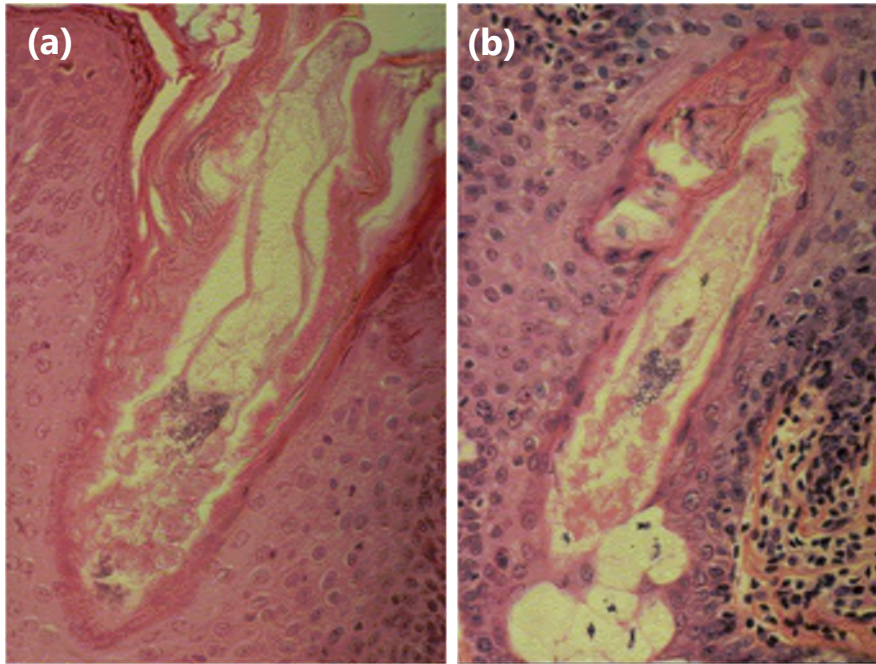


Fig. 18. Coupes histologiques longitudinales frontales des **2 espèces de Demodex** dans des follicules pilosébacés humains (hémalun-éosine-safran) (x 200) :
(a) Le *D. folliculorum*, forme longue, dans l'ostium folliculaire,
(b) Le *D. brevis* dans la glande sébacée.⁷⁵

Différents critères anatomiques très précis ont initialement été décrits pour les différencier,^{14,30} mais les seuls critères qui restent valables depuis les dernières découvertes, et qui sont accessibles aux non-acarologues, et en particulier aux dermatologues, sont la **forme de leurs embryons** (en tête de flèche pour le *D folliculorum*, ovale pour le *D brevis*) **et celle de l'extrémité distale de leur opisthosome** (tubulaire et arrondie pour le *D folliculorum*, pointue pour le *D brevis*). En effet, certains anciens critères sont devenus obsolètes suite à une récente étude de biologie moléculaire : (1) la taille (jusqu' à 440 µm pour le *D folliculorum*, 240 µm pour le *D brevis*), (2) la proportion relative de l'opisthosome (long représentant 7/10^{ème} de la longueur totale pour le *D folliculorum* ; court, représentant la moitié de la longueur totale pour le *D brevis*) et (3) la localisation (dans la glande sébacée identifiant le *D brevis*). En effet, en 2007, il est apparu qu'il existait des Demodex ressemblant à des *D brevis*, qui étaient petits et vivaient dans la glande sébacée comme lui, mais qui avaient une extrémité arrondie : ils ont été considérés au départ comme un deuxième phénotype de *D brevis*.³¹

En 2013 et 2014, sur base de l'ADN mitochondrial des Demodex,⁸³ il a été mis en évidence que, d'une part, **la forme de l'extrémité distale de l'opisthosome est le critère le plus important pour l'identification des deux espèces**, et que d'autre part, il y a en réalité **3 phénotypes de *D folliculorum*, tous avec extrémité arrondie en forme de doigt** (Tableau 1).³²

- A : très long, qui vit dans le canal pilosébacé et a un contenu granulaire brun,
- B : un peu moins long, qui vit dans le canal pilosébacé et a un contenu granulaire brun,

- C : petit, transparent et qui, comme le *D brevis*, se trouve dans la glande sébacée (phénotype qui avait été considéré dans un premier temps comme un 2° phénotype de *D. brevis*).

Il n'existerait **qu'un seul phénotype de *D brevis* (D)** : son extrémité est pointue, il est petit et transparent, et vit dans la glande sébacée.³²

En outre, des différences génétiques entre les *D folliculorum* des cils et du visage seraient possibles.⁸⁴

Tableau 1.
Caractéristiques des 4 phénotypes de Demodex décrits chez l'homme.

Tableau reproduit et modifié depuis « Zhao Ya-E et al. Molecular identification of four phenotypes of human Demodex mites (Acari: Demodicidae) based on mitochondrial 16S rDNA. Parasitol Res. 2013; 112: 3703-3711 ».³²

Table 1 Characteristics of the four phenotypes of two human *Demodex* species

Phenotype	Total length (µm)	Op L/ Pd L	Shape of terminus	Content and transparency of opisthosoma
A <i>D.f.L</i>	>300	4.0–5.0	Finger-like	Brown
B <i>D.f.S</i>	200–300	2.0–3.0	Finger-like	Brown
C <i>D.b.F</i>	100–200	1.0–2.0	Finger-like	Transparent
D <i>D.b.C</i>	<300	3.0–4.0	Cone-like	Transparent → <i>D. brevis</i>

Op L opisthosomal length, *Pd L* podosomal length, *D.f.L* long-bodied *D. folliculorum* with finger-like terminus, *D.f.S* short-bodied *D. folliculorum* with finger-like terminus, ~~*D.b.F* *D. brevis*~~ with finger-like terminus, *D.b.C* *D. brevis* with cone-like terminus → *D.f.F* = *D. folliculorum*

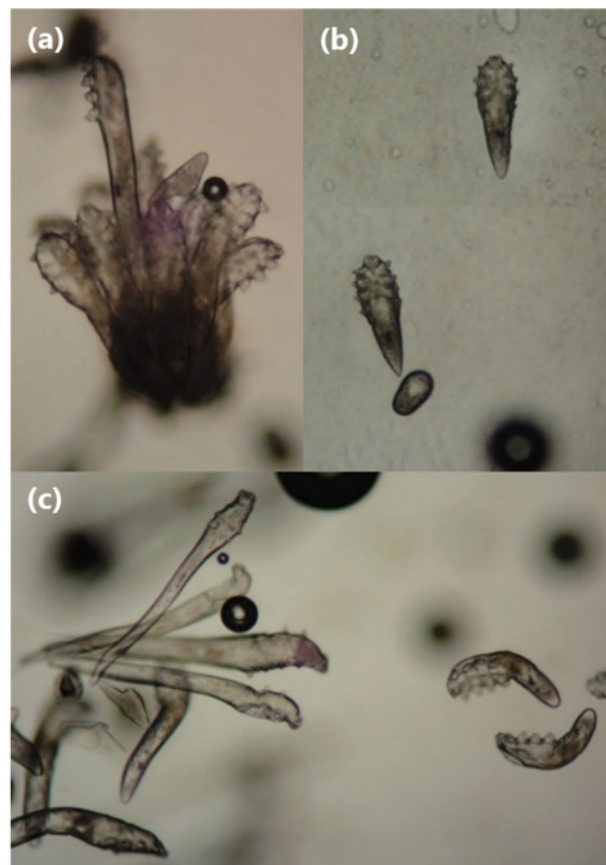
Fig. 19. Les 2 espèces de Demodex de l'homme visualisés au microscope au cours des consultations de dermatologie :

(a) 11 *D folliculorum* (type B probable) dans un follicule sur une biopsie de surface standardisée (§ 3.2) : 10 adultes dont un qui sort du follicule vers le haut, et 1 embryon en tête de flèche ;

(b) 3 *D. brevis* : 2 adultes et 1 embryon dans le contenu d'une pustule ;

(c) Deux phénotypes de *D folliculorum* sur une même biopsie de surface standardisée : **à gauche, 9 *D folliculorum* forme longue** (type A probable) : 4 formes immatures, 3 adultes (vraisemblables) et 2 embryons en forme de tête de flèche ;

A droite, 2 *D folliculorum* de phénotype court (type C) : plus petits, proportionnés comme le sont les *D brevis*, mais avec une extrémité arrondie comme celle des *D folliculorum*.



Les deux espèces se retrouvent sur la face^{38,60} et cohabitent vraisemblablement chez la majorité des humains,^{41,60} parfois même au sein du même follicule,⁶⁰ **les *D brevis* étant (4 fois)⁶⁰ plus nombreux que les *D folliculorum*** dans deux études (analysant respectivement 21 biopsies⁶⁰ et 370 expressions de sébum),⁴¹ surtout dans le cuir chevelu et sur le nez (voir annexe : § 7.2. Distribution des parasites en fonction des sites corporels).⁶⁰ Cette plus grande infestation par le *D brevis* est plus marquée chez l'homme³⁸ et s'accroît avec l'âge.⁴¹ Toutefois, deux autres études montrent à l'inverse une **nette prédominance du *D folliculorum*** (analysant respectivement 117 biopsies infestées,³⁸ et 100 biopsies de paupière),³⁷ le *D folliculorum* prédominant sur la face, y compris sur le nez, tandis que le *D brevis* prédominerait sur le reste du corps.³⁸

Quoiqu'il en soit, l'équilibre entre les deux espèces varie vraisemblablement en fonction des localisations, le ***D brevis* devant logiquement prédominer plutôt dans les zones où les glandes sébacées sont fortement développées** (§ 7.2.).

La méthode utilisée pour comparer les distributions respectives des deux espèces de Demodex est d'une importance cruciale (§ 1.3.2., 1.3.3. et 3.2.) car il faut pouvoir analyser l'entièreté du biotope des deux espèces. Seul l'examen anatomopathologique semble adapté à ce but, or, cette méthode est peu sensible pour détecter le parasite (§ 1.3.2. et 3.2.).⁵¹ Les résultats des études précédentes sont donc à considérer avec réserve, d'autant plus qu'ils sont divergents et que ces études ont été réalisées avant la description des 3 phénotypes de *D folliculorum*.

1.1.6. Cycle vital

Les recherches concernant le cycle vital du Demodex restent fort limitées au vu de l'impossibilité actuelle de cultiver le parasite in vitro, toutes les observations concordant pour dire que **l'environnement pilosébacé** est nécessaire à la copulation et à la métamorphose.^{22,69} En effet, Lacey *et al* ont récemment réussi un exploit en le maintenant vivant dans une culture de sébocytes, mais sans observer sa reproduction.⁸⁵ Une raison à cela pourrait être que les parasites sont maintenus **serrés au sein du follicule** : leurs pattes ne permettent pas de se maintenir contre leur partenaire, mais la structure du follicule les maintient bien serrés l'un contre l'autre, comme dans une boîte de sardine, favorisant ainsi la copulation (hypothèse personnelle). Les Demodex semblent fuir la lumière : d'après les auteurs, ils font,²⁸ ou pas,¹⁹ demi-tour quand on projette une rai de lumière devant eux, et vivent la tête en bas, enfouie vers l'intérieur des follicules. Ils meurent rapidement par dessiccation une fois extraits des follicules pilo-sébacés.^{19,69}

En 1961, Spickett a extrait des Demodex de la peau humaine à l'aide d'un tire-comédon, les a placés dans du sébum contenant de la pénicilline, a étalé la mixture

sur une lamelle de recouvrement et a inversé celle-ci sur une lame pourvue d'une concavité.²⁸ Il les a maintenus en milieu humide et sombre, et, de ses observations, recoupées avec des données histologiques, il a estimé que le cycle vital durait une **quinzaine de jours environ** (Fig. 20). Au stade adulte, le parasite vit 5 jours environ (3-5 jours pour le mâle, 4-6 jours pour la femelle).²⁸ Ainsi, Spickett estime qu'un être humain abrite environ 1500 générations de *Demodex* au cours de sa vie.²⁸ Cependant, il est probable que la durée du cycle soit en réalité **plus longue in vivo**, d'autant que des survies plus longues de *Demodex* au stade adulte ont pu être observées in vitro (10 à 25 jours).^{1,19,69,86}

Fig. 20. (a) Cycle vital du *Demodex folliculorum* d'après les données de Spickett.²⁸ Le mâle s'accouple avec la femelle dans l'ostium folliculaire, la partie la plus superficielle du follicule. Une fois fécondée, celle-ci descend dans le follicule où elle dépose son embryon, environ 12 heures (h) après la copulation. L'embryon (E) se transforme en larve (L) en 48 h, puis en protonympe (P) en 40 h. N'ayant que 6 pattes rudimentaires, celle-ci n'offre que peu de résistance au flux de sébum et est refoulée vers la surface, tout en se transformant en nymphe (N) (= deutonymphe) en 72 h ; dotée de 4 paires de pattes, celle-ci peut se mouvoir hors de l'ostium folliculaire, déambuler à la surface de la peau pendant 12h principalement pendant la nuit mais aussi pendant le jour⁴⁸ (jusqu'à 36 h), puis entrer dans un autre follicule et s'y développer en adulte (A) en 60 h. Quant à elle, après la copulation, la femelle remonte au niveau de l'ostium folliculaire où elle vivrait encore 120 h avant de mourir.²⁸

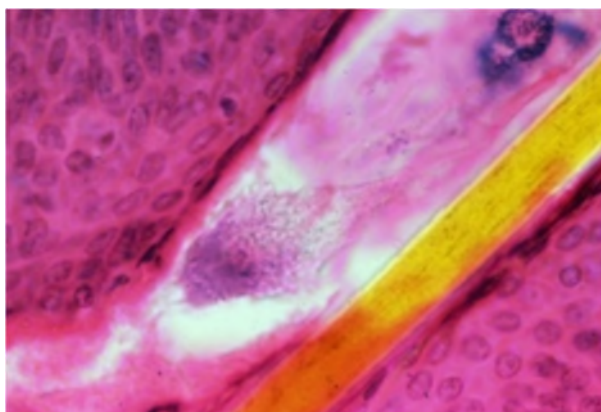
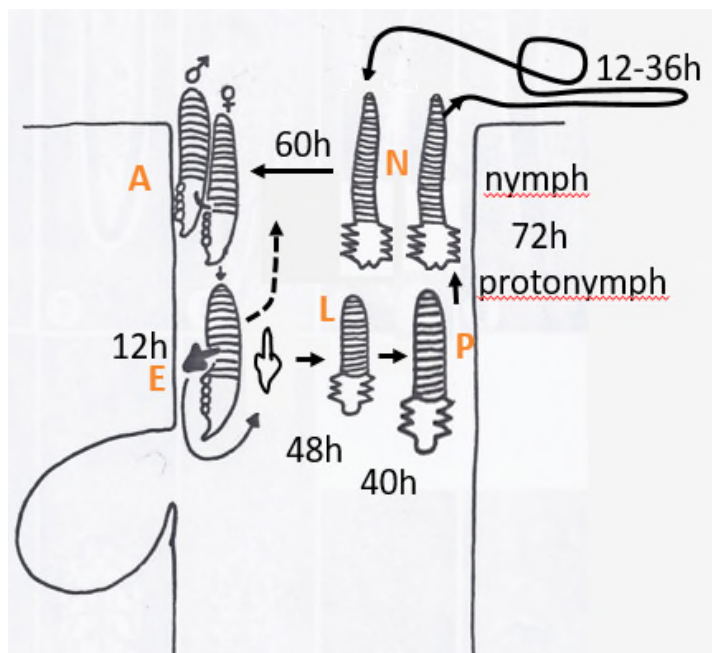


Fig. 21. Coupe histologique d'un **embryon de *Demodex folliculorum*** en coupe longitudinale frontale, au sein d'un infundibulum pileaire : le poil apparaît en jaune (hémalaun-éosine-safran) (x 200). L'embryon est vraisemblablement en train de se transformer en larve : forme encore en tête de flèche, apparition de stylets antérieurs et allongement de la queue.

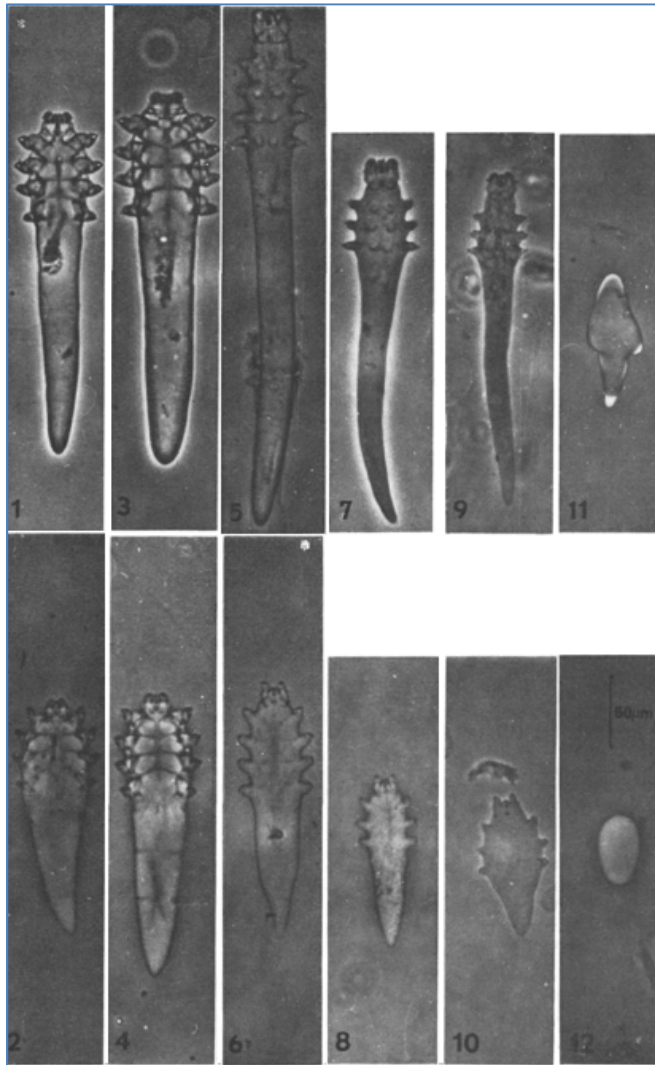


Fig. 22. Micrographies de *Demodex folliculorum* (en haut, chiffres impairs) et *brevis* (en bas, chiffres pairs) aux différents stades de leur développement :

(1,2) : adultes mâles ; (3,4) : adultes femelles ; (5,6) : (deuto)nymphes ; (7,8) : protonymphes ; (9,10) : larves ; (11,12) : embryons.

Photographies reproduites depuis « Nutting WB. Hair Follicle mites (Acari : Demodicidae) of man. Int J Dermatol 1976; 15: 79-98.¹⁴

La longue durée du cycle et la faible mobilité du parasite pourraient expliquer l'**extension lente** de la maladie à la surface cutanée.⁸⁷ Vu que la deutonymphe déambule à la surface de la peau, ce serait plutôt à ce stade que se ferait la contamination par contact facial

direct.^{19,28} Cette métamorphose a comme conséquence la formation considérable de **débris chitineux** successifs, en sus du débris final du cadavre du parasite.

Quand le Demodex arrive en fin de vie, ses mouvements diminuent progressivement, tout d'abord au niveau des pattes, puis des stylets ; les mouvements internes des particules abdominales sont les derniers à disparaître.¹⁹ L'agrégat noir, situé au début de son opisthosome⁶⁹ (correspondant à des corynebactéries endosymbiontiques (§ 1.1.4.2. C)) ainsi que son autofluorescence⁷⁰ (Fig. 23) disparaissent progressivement, et, à la fin, il ne reste plus du Demodex qu'un sac de chitine (Fig. 24 e).¹⁹

Ces différents témoins de fin de vie du parasite ne s'installent que très progressivement (Fig. 24), les rendant peu fiables à un temps donné. D'autres témoins de sa mort sont ainsi recherchés afin de mieux déceler et comparer les effets acaricides de traitements potentiels in vitro.^{86,88} La coloration à l'iodure de propidium (PI), qui marque uniquement les parasites morts, et ceci quelques heures après leur mort, paraît le plus précis (Figs. 24 et 25).⁸⁶

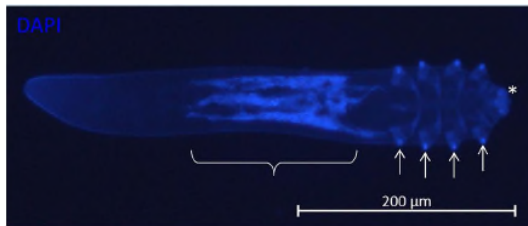


Fig. 23. Les structures les plus visibles au microscope à fluorescence (UV avec filtre bleu (DAPI)) sont celles qui sont les plus actives mécaniquement (le gnathosome pour creuser et consommer la nourriture, et les pattes pour se déplacer) et la partie

proximale de l'opisthosome (barre d'échelle = 200 μm).

Cette figure est reproduite depuis « Clanner-Engelshofen BM *et al.* Efficient isolation and observation of the most complex human commensal *Demodex* spp. *Exp Appl Acarol* 2018; 76: 71-80 ». ⁸⁶

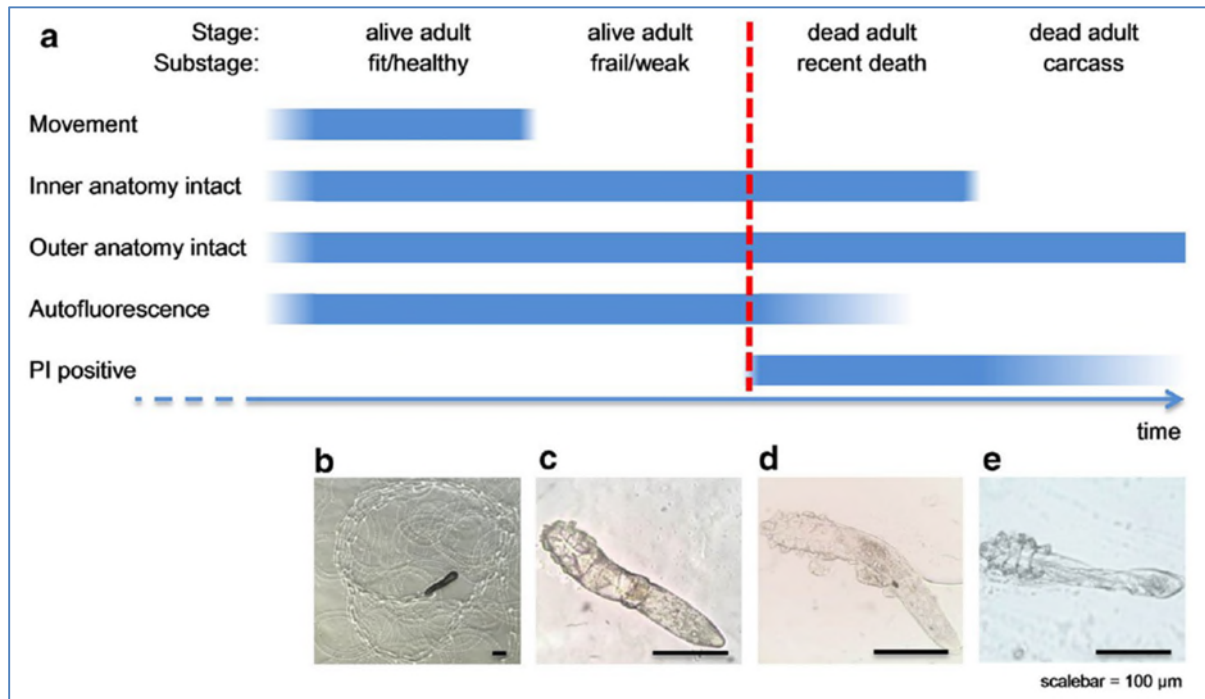


Fig. 24. Illustration de la chronologie de la fin de vie du *Demodex* spp. ⁸⁶

(a) **Quatre étapes** peuvent être définies, la ligne rouge en pointillés indiquant le moment de la mort : (1) l'acarien adulte **en bonne santé** (est en mouvement et a une anatomie, interne et externe, intacte) ; (2) l'acarien adulte **frêle/faible** (pas de mouvement, mais anatomie interne et externe intacte) ; (3) après la **mort**, l'acarien peut être distingué d'un acarien vivant frêle par sa fluorescence interne qui disparaît irrégulièrement ; et (4) finalement, seul subsiste un **exosquelette externe chitineux** (les structures anatomiques internes se sont désagrégées) ;

(b) Microscopie à contraste de phase d'un acarien rampant dans une plaque de gélose, ayant laissé de **nombreuses empreintes suite à ses déplacements** ;

(c) Acarien adulte vivant mais immobile ;

(d) Acarien mort dont l'anatomie interne est intacte ;

(e) Exosquelette de chitine d'un acarien.

Toutes les barres d'échelle = 100 μm

Abréviation : PI = coloration à l'iodure de propidium.

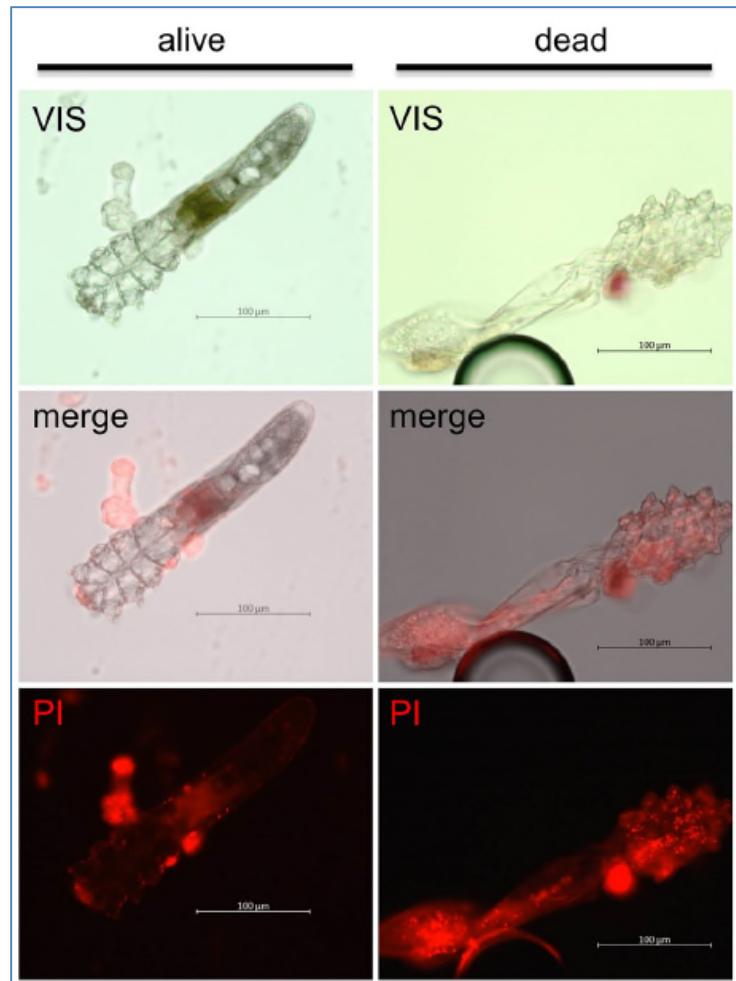
Figure reproduite depuis « Clanner-Engelshofen BM *et al.* Efficient isolation and observation of the most complex human commensal, *Demodex* spp. *Exp Appl Acarol* 2018; 76: 71-80 ». ⁸⁶

Fig. 25. La coloration à l'iodure de propidium (PI) marque l'intérieur du Demodex quand il est mort. Ci-contre, deux acariens, un vivant à gauche et un mort à droite, vus en lumière visible en haut (VIS), en lumière UV et filtre rouge (PI) en bas, et en image fusionnée (merge) au milieu.

Sur le côté gauche, seuls les débris externes sont colorés par PI.

Sur le côté droit, des noyaux fluorescents tachés sont observés à l'intérieur du podosome du parasite mort, (barre d'échelle = 100 µm).

Cette figure est reproduite à partir de l'article « Clanner-Engelshofen BM *et al.* Efficient isolation and observation of the most complex human commensal, *Demodex* spp. *Exp Appl Acarol* 2018; 76: 71-80 ». ⁸⁶



Différents moyens ont été utilisés pour essayer de **prolonger sa survie**, dont, principalement l'humidité (le sébum contient 2/3 d'eau), ^{1,19,28,69} l'obscurité, ^{1,28} la température, ^{19,28,69,89,90} le milieu (huile d'immersion ou autre, sébum, addition de streptomycine ou pénicilline).²⁸ Ainsi différentes survies ont été obtenues, jusqu'à 25 jours :¹ les parasites sont alors engourdis dans une sorte de léthargie, appelée « abiose », mais peuvent être réveillés par stimulation thermique ou mécanique.^{1,89} En effet, à 37°C, ils s'activent de façon extraordinaire, mais leur survie est moindre.⁸⁹ A 50°C, ils meurent.¹

Lacey *et al* ont développé une technique qui permet l'extraction, puis la conservation des parasites : ils pratiquent une biopsie cutanée de surface (voir § 3.2.) sans huile d'immersion, qu'ils placent ensuite avec un coton humidifié à 50% dans une boîte de Petri fermée, préalablement chauffée et maintenue dans un incubateur à 28°C ; la manipulation se fait dans environnement stérile et en moins de 4 minutes pour éviter la dessiccation.⁶⁹ Cependant, leurs dernières expériences montrent qu'une température de **4-5°C** est encore meilleure pour les conserver, en « abiose » : ils y survivent **6.5 jours en moyenne**, en comparaison de 2.5 jours à 28°C.⁹⁰

1.2. Le Demodex en médecine vétérinaire⁸⁷

En médecine vétérinaire, le Demodex est un **agent pathogène reconnu**: la démodécie y est considérée comme une dermatose parasitaire banale, peu contagieuse, provoquée par la prolifération du Demodex dans les follicules pilosébacés.⁹¹

Chaque espèce de mammifère a son espèce spécifique de Demodex, commensale, qui devient pathogène dans certaines circonstances, et le chien est l'animal chez qui se développent les lésions les plus graves : **la démodécie canine** est donc la mieux décrite. Chez les autres mammifères, la démodécie se présente soit sous sa forme érythématosquameuse comme chez le chat, soit sous forme pustuleuse comme chez les bovins (ceux-ci gardent un bon état général, mais leur peau est perdue pour l'industrie du cuir).⁹²

La présence de Demodex chez une souris marsupiale suggère que le **Demodex parasite les mammifères depuis 100 à 200 millions d'années**, ce qui pourrait expliquer la relative tolérance du système immunitaire de l'hôte vis-à-vis du parasite.⁹³

1.2.1. Trois Demodex chez le chien

Trois espèces de Demodex sont retrouvées chez le chien : (1) le *Demodex canis* (Tulk, 1844) est le plus fréquemment rencontré ; il ressemble assez fort au *D brevis*, mais a des embryons fusiformes ; (2) le *Demodex cornei* ou *Demodex spp forme courte* (Scarff, 1988), plus petit que le *D canis*, qui semble préférer la surface de la peau, au niveau de la couche cornée de l'épiderme, et (3) le *Demodex injai* ou *Demodex spp forme longue* (Hillier et Desch, 1997) deux fois plus long que le *D canis*, qui se localise préférentiellement au niveau du tronc.

1.2.2. Transmission & facteurs de risques

Tous les chiens abritent des Demodex dans leur peau, mais en quantité très faible chez le chien sain, ce qui n'a pu être mis en évidence que récemment, par de multiples examens utilisant la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR).⁹⁴ Par conséquent, la présence du parasite lors d'un examen ne doit pas être considérée a priori comme physiologique par le vétérinaire.⁸⁷

La transmission se fait par contact direct, étroit et prolongé au cours des premières semaines de la vie, ce qui expliquerait la prédisposition des lésions pour la tête et les pattes antérieures, qui sont les zones en contact intime avec la mère pendant l'allaitement (Fig. 26).

Fig. 26. Chienne allaitant ses petits : la tête et les pattes antérieures des chiots sont en contact intime avec la mère pendant l'allaitement.^{95,96}



Beaucoup de facteurs favorisants ont été évoqués (dont l'état hyperséborrhéique, l'humidité persistante (plis, espaces interdigitaux, lavages fréquents...), la mauvaise hygiène, et la mauvaise alimentation), mais un **déficit de l'immunité cellulaire** semble être le facteur principal, si pas unique. Chez les jeunes chiots, ce déficit immunitaire serait surtout héréditaire, tandis que chez les plus vieux, il serait secondaire à un facteur extérieur agissant sur l'immunité (affection intercurrente, médicaments, chirurgie et anesthésie).^{97,98}

1.2.3. Signes et symptômes^{92,99}

La majorité (80%) des démodécies canines concerne des chiens jeunes (moins de 2 ans), de race pure, à poil ras⁸⁷ et se manifeste par des dépilations (nummulaires ou diffuses) et de la séborrhée. Les 20% restants sont représentés par des chiens plus âgés souffrant souvent d'une affection sous-jacente. La démodécie canine peut se présenter sous plusieurs formes cliniques, dont les principales sont :

A. La démodécie sèche localisée (Fig. 27) : la démodécie commence généralement par quelques plages alopéciques nettement délimitées de 1 cm de diamètre, situées à la tête, (en péri-oculaire, péri-auriculaire ou autour des commissures labiales) ou au niveau des parties antérieures des pattes antérieures. Il est admis de considérer la



démodécie comme localisée tant qu'il n'y a pas plus de 4 lésions de maximum 2,5 cm de diamètre.¹⁰⁰ L'alopecie peut être totale ou partielle, la couleur de la peau normale ou érythémateuse, parfois rugueuse, non prurigineuse. Le centre de la plaque est finement squameux et parfois une pigmentation mélanique tardive s'y développe. L'état général de l'animal n'est pas modifié et le plus souvent, les lésions régressent d'elles-mêmes après plusieurs semaines ou mois : 90% des cas évoluent spontanément vers la guérison.

Fig. 27. Démodécie sèche localisée : zones alopéciques sèches péri-orificielles (oreilles, yeux, commissures labiales).

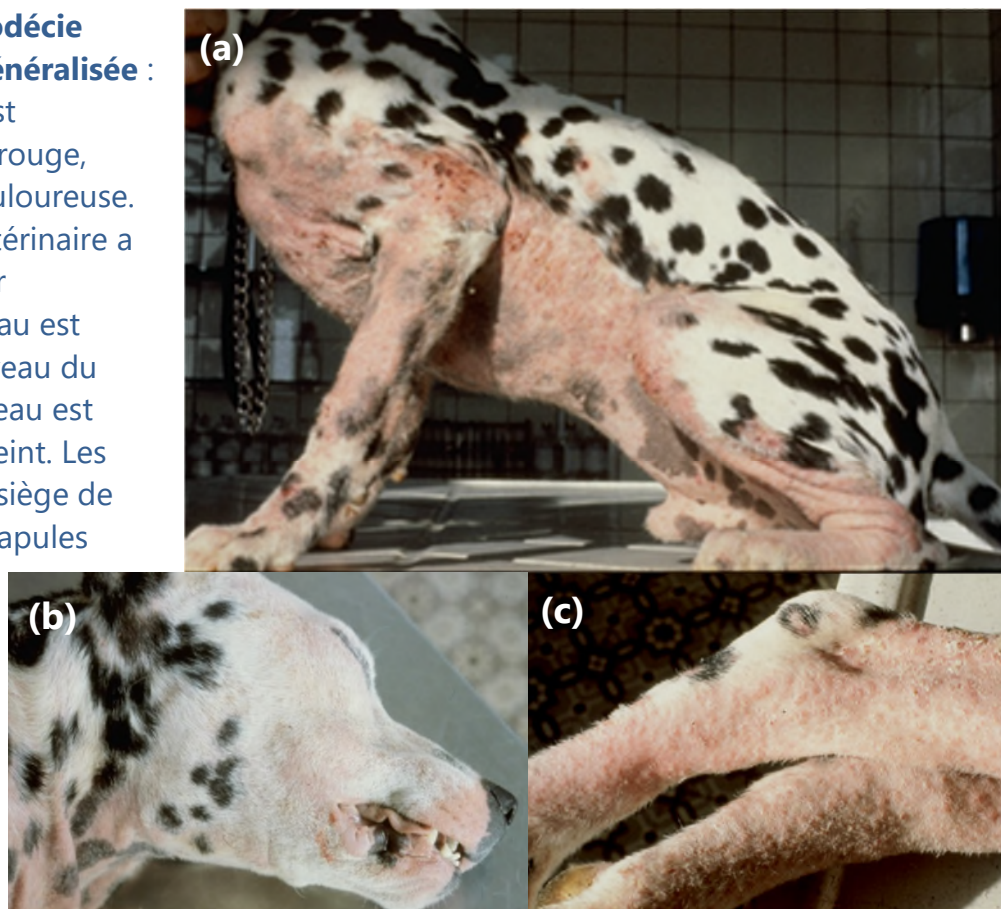
B. La démodécie sèche généralisée : dans 10% des cas, les plaques se multiplient, s'étendent et confluent, la peau y est érythémateuse et œdémateuse ; elle s'accompagne le plus souvent d'un état d'abattement de l'animal.

C. La démodécie pustuleuse ou pyodémodicie (Fig. 28) : dans la moitié des cas, cette généralisation s'accompagne de surinfection. La peau est douloureuse, chaude, enflammée, mamelonnée, comportant des pustules superficielles blanc jaunâtres, microbiennes aspécifiques et des **papules profondes, déformant peu le relief cutané, de couleur violette-aubergine, pathognomoniques de la démodécie**. Les germes responsables sont le staphylocoque doré (60% des cas), le proteus (30%) et le pyocyanique (10%). Les pustules finissent par se rompre, le pus s'étalant à la surface de la peau, se desséchant pour former des **croûtes épaisses et grasses** sous lesquelles la suppuration perdure. La peau devient de plus en plus enflammée, couverte de croûtes et nauséabonde (odeur de beurre rance). Prurigineuse, cette forme amène le chien à se gratter et à se lécher, disséminant alors les germes sur la peau et les ingérant. Les adénopathies sont palpables, l'état général décline, parfois rapidement : hyperthermie, amaigrissement, anorexie, cachexie... Sans traitement, l'animal évolue vers une septicémie mortelle. De plus, la douleur et le prurit deviennent à ce point intense que le vétérinaire est parfois obligé de l'euthanasier.

Fig. 28. Démodécie pustuleuse généralisée :

(a) : La peau est mamelonnée, rouge, chaude, et douloureuse.
(b et c) : Le vétérinaire a dû euthanasier l'animal. La peau est épaissie au niveau du cou, et le museau est également atteint. Les pattes sont le siège de nombreuses papules adjacentes et la peau y est squameuse.

Ces figures ont été données par le Professeur M. Henroteaux, faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège en 1984, et sont publiées avec son autorisation.



Il arrive que cette forme pustuleuse n'entreprenne que les pattes, et soit alors dénommée « **pododémodicie pustuleuse** », mais, de par la profondeur des lésions qu'elle entraîne, celle-ci est de pronostic tout aussi grave que la forme généralisée.

1.2.4. Histologie & physiopathologie ^{97,101,102}

Histologiquement, la peau du chien se différencie de celle de l'homme par le fait qu'elle est beaucoup plus fine, ne comportant pas de couche granuleuse (sauf sur les pattes), et que chaque orifice pileux voit surgir un poil primaire et plusieurs poils secondaires.¹⁰¹

Au début de la démodicie, les follicules apparaissent dilatés, remplis de quelques Demodex dans le tiers supérieur, de débris de kératine et de poils altérés. L'épiderme réagit à cette première invasion par une hyperplasie globale, folliculaire et mélanocytaire : hyperkératose, hyperacanthose, hyperplasie sébacée et hyperactivité mélanocytaire, avec des dépôts importants de mélanine dans le derme.¹⁰²

Dans la forme localisée, le derme est le siège d'un infiltrat lymphohistocytaire et les vaisseaux sont fortement dilatés.⁹⁷

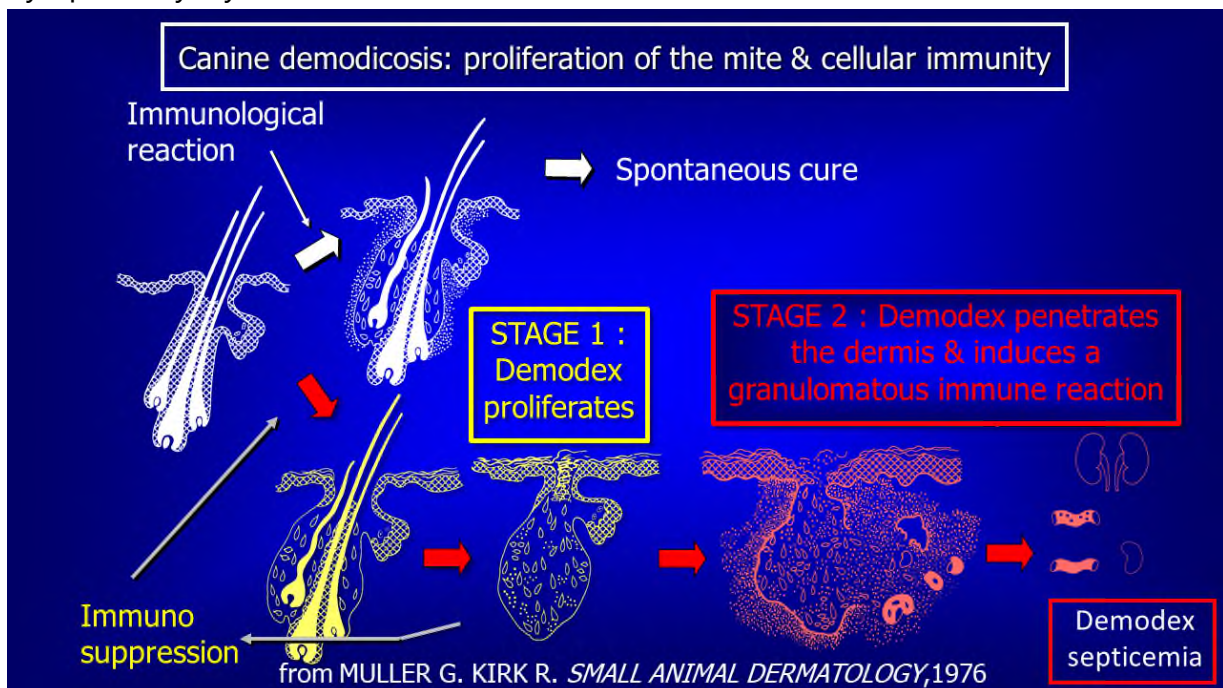


Fig. 29. Représentation schématique des différentes **phases de la démodicie canine** à l'échelle du follicule pileux. Schéma modifié à partir de « Muller G, Kirk R. Demodicosis. In : Small animal dermatology. Second ed. WB Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1976. Ch. 23 pp: 353-63".¹⁰¹

Dans la forme généralisée, le derme ne montre qu'un léger infiltrat plasmocytaire et une dilatation minime des vaisseaux, ce qui témoigne de **l'absence de réaction** par rapport à la forme localisée (Figs. 29 et 30).⁹⁷ A ce stade, les 2/3 inférieurs du derme et les ganglions sont intacts. Les Demodex et les débris de

kératine finissent par former un bouchon qui obstrue l'ostium folliculaire : cliniquement, ces cônes cornés sont responsables d'une sensation de rugosité au toucher.¹⁰² Ensuite, les Demodex se font plus nombreux et descendent plus profondément dans les follicules. La paroi des follicules distendus devient plus mince et finit par se rompre :¹⁰² les Demodex lâchés dans le derme sont alors entourés d'une intense réaction inflammatoire à corps étranger (microabcès constitué de polymorphonucléaires, granulomes à cellules épithélioïdes et cellules géantes).^{97,102}

Cependant, l'immunité de l'hôte peut aussi ne pas réagir à ce stade d'invasion : c'est ce qui a été observé chez une souris marsupiale atteinte de démodécie (de nombreux Demodex, après avoir dévoré toute l'épaisseur de l'épithélium se sont retrouvés dans le derme... sans provoquer aucune réaction immunitaire de la part de la souris).²⁴

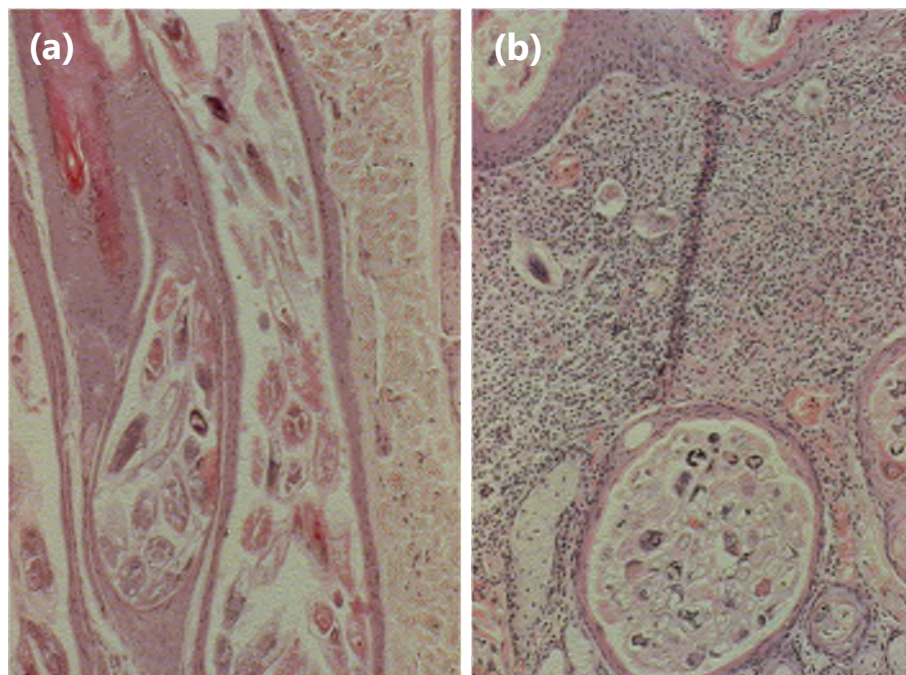
Fig. 30. Coupes histologiques de démodécie :

(a) Forme généralisée débutante :

follicules dilatés remplis de *D. canis*, hyperkératose, hyperacanthose, et absence d'infiltrat dermique (coupe longitudinale) ;

(b) Forme pustuleuse généralisée avérée :

follicules dilatés, remplis de *D. canis*, avec présence de parasites dans le derme, important infiltrat dermique à polymorphonucléaires neutrophiles (coupe transversale).



Les follicules rompus ouvrent la voie aux staphylocoques dorés présents sur la peau du chien.⁸⁷ A la longue, les fibroblastes se font plus nombreux et viennent déposer des faisceaux de collagène parallèlement à la surface cutanée,⁸⁷ ce qui explique la peau épaissie, à plis fixés, qui est observée dans les démodécies anciennes. Depuis le derme, les Demodex, morts, passent dans les vaisseaux et les ganglions lymphatiques où on les retrouve à tous les stades de leur développement, en proportions identiques à celles présentes dans la peau (si ce n'est l'absence d'embryons témoignant de l'absence de prolifération ailleurs que dans les follicules).¹⁰³ Dans les ganglions, on les retrouve dans le sinus cortical, associés le plus souvent à une cellule géante, avec microabcès chez les chiens fortement surinfectés.¹⁰³ Les Demodex sont aussi retrouvés dans les vaisseaux lymphatiques (où

des thrombi non occlusifs sont retrouvés, composés de Demodex, de cellules géantes, de macrophages, d'érythrocytes et de fibrine)¹⁰³ et dans les organes internes (rate, foie, reins, vessie, tube digestif et poumons), ainsi que dans le sang, les urines et les selles.¹⁰⁴

Il semblerait que **l'immunodéficience soit spécifique et liée à un dysfonctionnement héréditaire plus ou moins important des lymphocytes T spécifiques au Demodex**, dont l'origine n'est pas bien établie (reconnaissance des Ags ou réponse immunitaire aux Ags). Un déficit héréditaire à **pénétrance variable** pourrait expliquer la variabilité des présentations cliniques.⁹⁹ Cette hypothèse permettrait d'expliquer la prévalence élevée de la démodécie dans certaines races, la transmission de la démodécie à certains chiots de la portée, l'existence de formes variées de démodécie, le taux variable de guérison concernant des formes semblables (la guérison étant plus facilement obtenue avec une déficience faible des lymphocytes). Les études ont surtout exploré le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (responsable de la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T), dont un gène hautement polymorphe est fortement associé à la démodécie (le dog leucocyte antigène (DLA)).⁷¹ Cependant, il est alors étonnant que dans la plupart des cas, la maladie ne récidive pas.⁹³ Il faut enfin noter que tout autre facteur d'immunosuppression (maladie intercurrente, stress, traitements, anesthésie...) reste un facteur de risque supplémentaire. Par ailleurs, cette immunosuppression disparaît quand les parasites sont éliminés par le traitement, suggérant qu'elle est induite par les parasites eux-mêmes.⁹⁷ Quasi tous les chiens avec démodécie généralisée présentent le profil type de **l'épuisement lymphocytaire**, lié à la persistance de l'Ag (§ 7.3.2.).⁹³ Or, dans ce cas, la disparition de l'Ag par le traitement, aide les lymphocytes T à regagner leurs différentes fonctions et à échapper à l'épuisement (§ 7.3.2.), ce qui pourrait expliquer que les chiens ne récidivent pas.⁹³

Par ailleurs, une récente étude de biologie moléculaire, comparant l'activité de l'acétylcholinestérase et de différentes cytokines dans le sang de chiens démodéciques et contrôles sains, suggère que **le *D canis* pourrait avoir une double influence sur l'immunité car il y a une juxtaposition de témoins d'immunotolérance et d'immunostimulation :**

(A) Il pourrait d'une part endormir l'immunité de son hôte pour proliférer en paix car :

- *les témoins anti-inflammatoire sont augmentés :*
 - (1) **la cholinestérase**, témoin indirect de l'augmentation d'acétylcholine (ACh), qui témoigne de l'activation du réflexe physiologique neuro-immunitaire anti-inflammatoire visant à maintenir l'homéostasie (§ 7.3.4.) ;

- (2) **l'interleukine (IL)-10**, cytokine immunosuppressive et anti-inflammatoire, qui inhibe la sécrétion de cytokines par les Th 1;¹⁰⁵
- *tandis que les témoins de la réaction inflammatoire sont diminués :*
 - (1) le taux de facteur alpha de nécrose tumorale (TNF- α),¹⁰⁶ sauf en cas de pyodermie,⁷¹
 - (2) le taux de cytokines pro-inflammatoires circulantes,¹⁰⁶
 - (3) l'expression des gènes récepteurs Toll (TLR) 4 et 6,¹⁰⁶
 - (4) l'IFN γ (médiateur de l'immunité cellulaire) est diminué ;⁷¹

(B) Et d'autre part, il pourrait aussi stimuler l'immunité de son hôte car :¹⁰⁶

- (1) l'expression des TLR2 est augmentée dans les kératinocytes ;
- (2) Les cellules mononuclées sont augmentées dans le sang ;
- (3) L'IL-2, cytokine qui régule l'immunité cellulaire et favorise la tolérance, est diminuée.

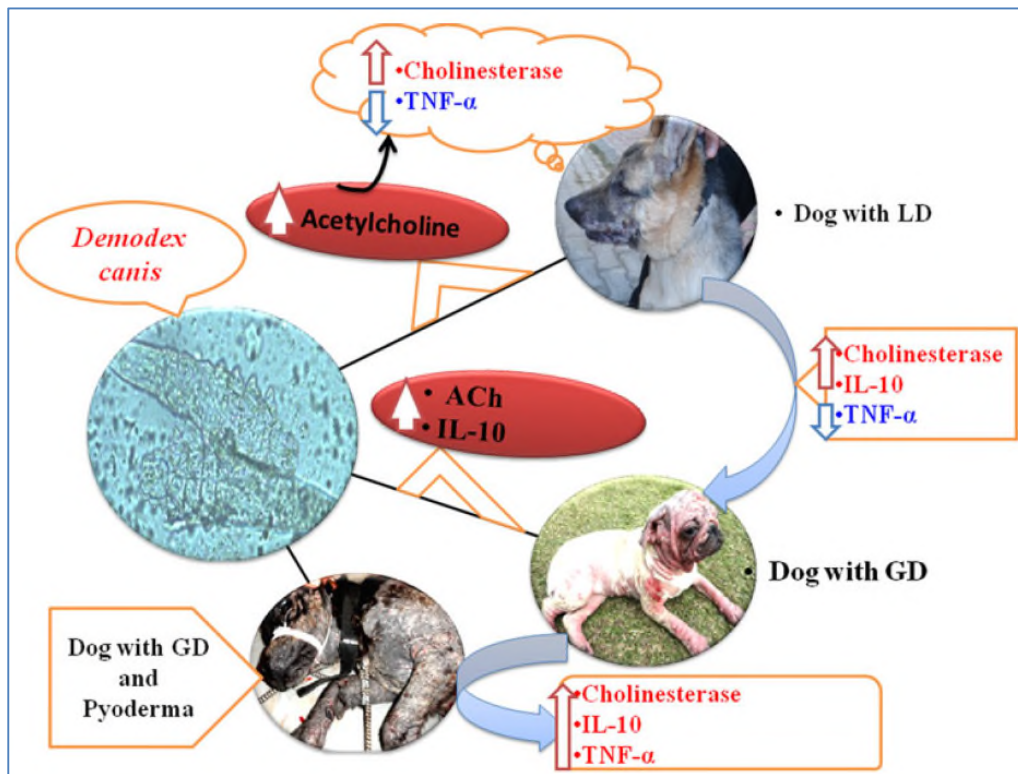


Fig. 31. Représentation schématique de l'association possible entre la voie cholinergique et la régulation des cytokines dans la démodécie canine.

Les flèches indiquent les différences significatives par rapport aux contrôles, et l'ampleur des flèches indique les différences entre les différents types de démodécie. L'acétylcholinestérase est augmentée dans toutes les formes de démodécies, mais plus dans la forme généralisée (GD) que dans la forme localisée (LD). Le TNF- α , augmenté en cas de pyodermie, pourrait être la réponse immunitaire vis-à-vis de la surinfection bactérienne.

Cette figure est reproduite à partir de l'article «Kumari P *et al.* *Demodex canis* regulates cholinergic system mediated immunosuppressive pathways in canine demodicosis. *Parasitology* 2017; 144: 1412–1416 ». ¹⁰⁵

1.2.5. Diagnostic

Si une large population de parasites et de formes immatures vivants est habituellement mise en évidence,⁹⁸ le simple fait de trouver **plus d'un parasite sur une zone d'environ 1 cm²** est déjà fortement suggestif de démodécie.¹⁰⁰

Le **raclage profond** est la méthode de choix : la zone à racler est choisie en prenant soin d'éviter les zones remaniées et les lésions de furonculose et de cellulite. Les pustules sont par contre un bon lieu de raclage. Un fragment de peau est pressé entre les doigts, une goutte d'huile minérale est déposée sur cette zone et la peau est alors raclée avec un bistouri à lame mousse, jusqu'à la rosée sanglante, signe d'atteinte dermique. L'étalement du produit de raclage dans de l'huile minérale et l'observation au microscope (grossissement 40 à 100) doit se faire ensuite assez rapidement. L'efficacité du traitement est évaluée au travers du **ratio** « **deutonymphes/adultes** », les deutonymphes témoignant de la reproduction du parasite et donc d'une démodécie active.

Le **trichogramme** (par épilation de poils) sera effectué là où le raclage est difficile (entre les doigts, autour des yeux). En cas d'examen négatif mais de forte suspicion, il ne faut pas hésiter à pratiquer une **biopsie** pour établir le diagnostic.¹⁰⁰

1.2.6. Traitement

Le traitement doit être adapté à la forme clinique de la démodécie mais aussi, et surtout, au propriétaire (coût, capacité d'application...), car sa réussite dépend essentiellement de l'observance du traitement, et donc de la compréhension et de la motivation de ce dernier. Il n'est pas nécessaire lors d'une démodécie localisée car la guérison survient spontanément et il ne semble pas prévenir l'évolution vers une démodécie généralisée.⁹¹ Mais le contrôle de l'animal reste important afin de déceler le plus précocement possible une aggravation de la démodécie. Si aucune amélioration n'est observée après 4 à 6 semaines, la probabilité d'une guérison spontanée devient faible.⁹¹

La mise en place d'un traitement est nécessaire lors de démodécie sèche généralisée adulte, de démodécie surinfectée, et de pododémodécie. Il sera long, coûteux et bien souvent contraignant : il nécessitera un suivi mensuel afin de permettre d'examiner le chien et d'évaluer l'efficacité du/des traitements instaurés grâce aux examens complémentaires (raclage, ...) afin de les ajuster. Il consistera en :

A. Mesures préliminaires :

- Sélectionner au moins 5 sites de raclage pour suivre l'évolution de la population parasitaire, en y incluant au minimum la face et une patte antérieure,⁹¹ car ce seraient les derniers sites déparasités ;

- Quantifier, au moins approximativement, le nombre moyen des différents stades parasitaires (par exemple : 65% adultes, 20% nymphes, 10% larves, 5% embryons), afin d'apprécier au mieux l'efficacité du traitement et donc le pronostic ;
- Tondre les animaux à poil mi-long à long afin d'apprécier l'étendue des lésions et d'augmenter l'efficacité du traitement par un meilleur contact du produit topique avec la peau ;^{91,100}
- Utiliser des shampoings anti séborrhéiques et/ou comédolytiques : le peroxyde de benzoyle permet une désobstruction des follicules pileux et favorise ainsi l'action de l'acaricide topique. Des balnéations peuvent être prescrites quotidiennement en début de traitement puis espacées ;
- Améliorer de l'état général : si besoin, apport nutritionnel, vermifuges, ...

B. Traitements des surinfections ;

C. Traitement spécifique, acaricide :

a. Soit sous forme topique : **amitraz** 0,025-0,06% 1x/semaine. Il faut noter que le lindane, **le benzoate de benzyle**, les organophosphorés, les pyréthriinoïdes et le lufénuron seraient **inefficaces**.

b. Soit sous forme systémique (per os ou sous-cutané) : les lactones macrocycliques (oxime de milbémycine, moxidectine, **ivermectine**) étaient auparavant le traitement de choix mais ont parfois de graves effets secondaires chez certains chiens de race. Ils sont actuellement remplacés par un nouvel insectifuge et acaricide systémique à **longue durée d'action**, inhibant sélectivement les canaux de chlorure de l'arthropode : le **fluralane** qui, en une dose orale ou topique unique, s'est révélé très efficace dans les cas de démodécie généralisée et est maintenant le traitement de choix dans la plupart des cliniques vétérinaires.⁷¹

D. Traitement des maladies sous-jacentes (démodécie généralisée de l'adulte).

E. L'euthanasie est parfois conseillée en fonction de l'étendue et de la nature des lésions, de l'atteinte de l'état général, de la présence d'une maladie concomitante de nature incurable ou difficile, ou encore de la motivation et des moyens du propriétaire.

On considèrera un animal guéri lorsqu'un traitement permet une **guérison clinique et parasitaire** maintenue un an après l'arrêt des soins. Le traitement est poursuivi jusqu'à l'obtention de deux séries de raclages négatifs obtenus à un mois d'intervalle, car **la guérison clinique précède la guérison parasitaire**.⁹¹

Le traitement ne permettant pas d'éliminer tous les parasites d'un animal, les rechutes sont possibles tout au long de sa vie. Des contrôles réguliers, trois mois après la guérison parasitaire, puis tous les ans doivent être instaurés afin d'assurer une bonne surveillance et donc une intervention thérapeutique la plus précoce possible.

1.3. Le Demodex en médecine humaine

Alors qu'il fait partie du microbiote normal de la peau humaine adulte, l'éventuelle utilité du Demodex pour l'homme reste encore un mystère : peut-être est-il, à la base, un commensal qui n'a aucune utilité, ou peut-être entretient-il avec l'homme une relation symbiotique d'entraide mutuelle, en nettoyant le follicule pilosébacé et en le débarrassant d'autres microorganismes comme le *Cutibacterium acnes* (anciennement appelé *Propionibacterium acnes*) ou le *Malassezia furfur*.^{81,107}

Par contre, il est de plus en plus évident que, quand il se multiplie excessivement ou quand il pénètre dans le derme,⁷⁵ il devient pathogène et donc un vrai parasite.¹⁰⁷ Bien que le Demodex ait été soupçonné jouer un rôle dans la rosacée dès 1925⁵ et que des symptômes liés à son infestation aient déjà été signalés,^{1,45,108} ce n'est cependant qu'**en 1930 que Ayres décrit clairement pour la première fois des dermatoses faciales causées par le *Demodex folliculorum***. Prélevant quelques écailles folliculaires avec une fine pince pointue à la surface de la peau et les examinant au microscope (directement, ou, encore plus facilement, après adjonction d'hydroxyde de potassium à 40%), il observe « **de grandes quantités de parasites** » sur la peau de ses patients, et il constate qu'un traitement local à base de soufre fait disparaître tant les lésions cliniques que la grande quantité de parasites.^{6,59} A l'époque, il soupçonne que l'absence de nettoyage de la peau du visage à l'eau et au savon, combiné à l'emploi abusif de cosmétiques pourrait favoriser leur prolifération en obstruant la sécrétion pilosébacée.^{6,7,59,109}

Plusieurs formes cliniques de démodécies sont décrites, mais leurs définitions et classifications sont encore discutées (§ 3.11. et 5.5.1.).¹¹⁰⁻¹¹² Elles surviennent essentiellement chez l'adulte, mais ont été décrites chez l'enfant, apparemment en bonne santé¹¹³⁻¹¹⁵ ou immunodéprimé.¹¹⁶⁻¹²⁴ Elles atteignent essentiellement le visage, mais ont été décrites, rarement, sur le corps en cas d'immunodépression.¹²⁵

En dépit de leur extrême fréquence,^{6,126} les démodécies restent encore aujourd'hui très mal connues des dermatologues,^{126,127} et sont donc **fortement sous-diagnostiquées**,^{2,126-129} ce qui provient d'une part de la discrétion de leurs symptômes et d'autre part de la confusion nosologique existant avec d'autres entités (§ 1.5., 4.2.6. et 5.5.1.).

1.3.1. Les démodécies

1.3.1.1. Le pityriasis folliculorum

Le pityriasis folliculorum est la démodécie la plus fréquemment rencontrée en consultation de dermatologie,^{6,126} mais elle est aussi la plus discrète, la moins inflammatoire,^{6,126} car l'érythème n'est pas toujours présent.¹³⁰ Ayres, qui l'a décrite en 1930, insiste d'emblée sur cette extrême **discrétion** : à 1,5 m de distance, aucune anomalie ne peut être détectée. Il faut regarder le patient de très près, et avec une bonne lumière.^{2,6} Il en publie une photographie seulement en 1961 (Fig. 32 a) :¹⁰⁹ en noir et blanc, elle est assez difficile à interpréter quand on n'a jamais reconnu cette entité dans la réalité. Personnellement, nous avons mis plusieurs années à comprendre à quel aspect cela correspondait en pratique (Fig. 32 b), car personne, en Belgique, comme ailleurs,^{127,129} n'était habitué à la détecter.

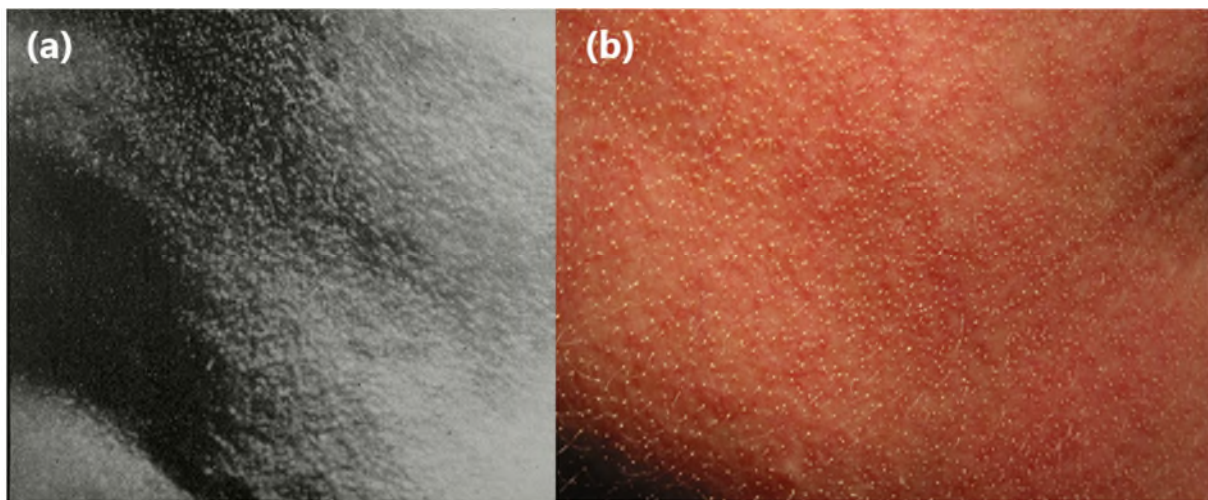


Fig. 32. Pityriasis folliculorum : connaissance livresque et réalité.

(a) Photographie noir et blanc publiée par Ayres en 1961 : joue gauche d'un patient atteint de pityriasis folliculorum ; en bas à gauche, le sillon nasogénien. Photographie reproduite depuis « Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. Arch Dermatol 1961; 83:816–27». ¹⁰⁹

(b) Photographie couleur, personnelle, après dégraissage à l'éther et éclairage tangentiel de la joue droite d'une patiente atteinte de pityriasis folliculorum. Suite au développement de notre méthode (§ 3.2, 3.3. et 4.1.4), nous avons montré qu'elle présentait 308 D/cm² en première couche et 444 D/cm² en deuxième couche.

Généralement associées à un érythème diffus, de minuscules écailles folliculaires blanchâtres punctiformes sont régulièrement disposées à la base des poils vellus, évoquant l'aspect d'une hyperkératose folliculaire : ici, cependant, les écailles ne correspondent pas seulement à de la kératine, mais bien aux extrémités des queues des parasites qui font protrusion au niveau des orifices pilaires (Fig. 33). Dès lors, la peau a un **aspect de givre** et est rugueuse au toucher.¹⁰⁹ En consultation, les patients se plaignent de rougeurs ou de plaintes principalement subjectives :

impression de peau sèche,^{6,109,126,131} sensation de prurit, peau hypersensible, irrégulière, rugueuse, « accrochant le maquillage » et le rendant irrégulier. Sans un examen minutieux, de près, avec de bonnes lunettes, la peau peut paraître normale¹³² ou seulement érythémateuse (§ 1.5.). Et, quand ces fines écailles sèches sont recouvertes d'une couche de sébum, la peau peut paradoxalement avoir un aspect gras. Dès lors, le **nettoyage systématique de la peau avec une compresse imbibée d'éther et un éclairage tangentiel**² permettent de mieux détecter les écailles folliculaires (§ 3.3) : fait remarquable, ce frottement est souvent... audible !

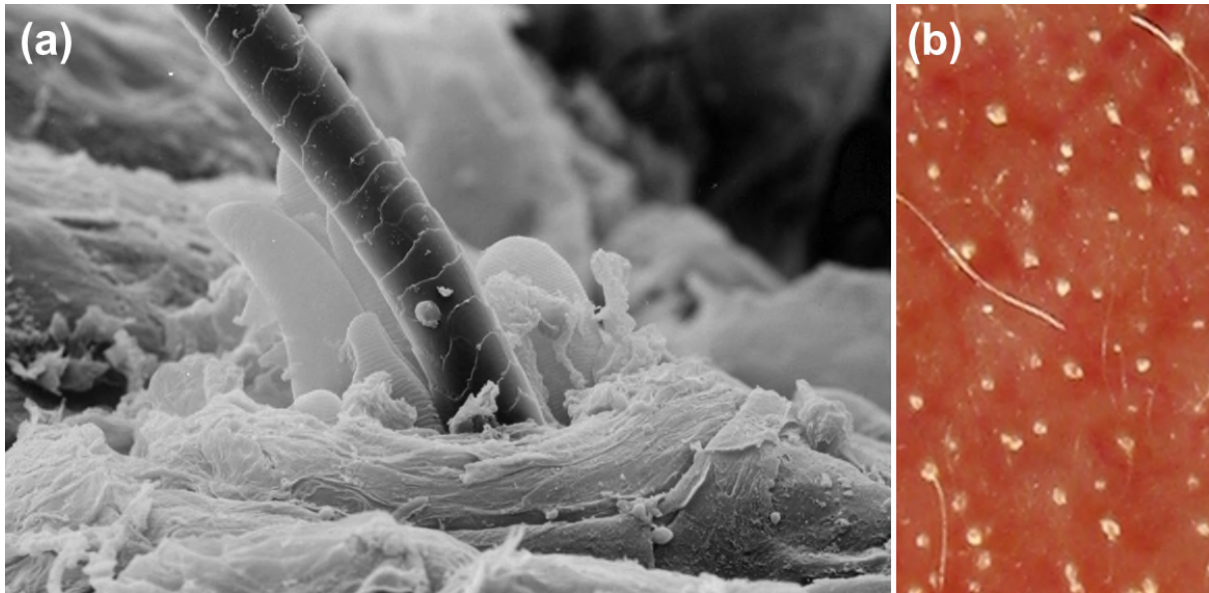


Fig. 33. Ecailles folliculaires visualisées de différentes façons :
(a) Microscope électronique à balayage de la surface cutanée d'une seule écaille folliculaire : un poil et au moins 6 *D folliculorum*, aux opisthosomes striés et extrémités distales arrondies en forme de doigt. Photographie reproduite depuis « Crosti C. Demodetic infestation of the pilosebaceous follicle. J Cutan Pathol 1983; 10:257-61». ¹³³
(b) Photographie clinique zoomée de la surface de la peau : chaque écaille folliculaire correspond à plusieurs Demodex agglutinés les uns contre les autres.

Le pityriasis folliculorum peut se confondre avec une peau saine, une rosacée érythématotélangiectasique (RET) (§ 1.5.), une trichostasis,¹³⁴ des comédons extrudés, une kératose pilaire, des papules folliculaires (ressemblant à une kératose pilaire) dans le cadre d'une alopecie frontale fibrosante,¹³⁵ un ulérythème ophryogène, une acné vulgaire, une dermatite séborrhéique,^{126,136}...

D'autres noms lui ont été donnés dans la littérature, mais sont à proscrire à notre avis : Demodex dermatitis,¹³⁷ spinulate demodicosis¹¹⁰ (§ 3.11.), demodicosis spinulosa.¹³⁸ Notons au passage que le terme « demodicidosis », qui est parfois utilisé, a été créé^{2,109} sans tenir compte des règles linguistiques usuelles, les maladies parasitaires ne comportant jamais un aussi long suffixe, de surcroît dénué de sens propre (ainsi, par exemple, le parasite « scabies » donne la maladie « scabiose » et

non « scabicideuse »). Ce terme de « demodicidosis/demodicidose » devrait donc être abandonné et remplacé par « **demodicosis** » en anglais et « **démodécie** » en français (Professeur E. Grosshans, communication personnelle, 2004).

1.3.1.2. La démodécie pseudo-rosacée

Dès 1932, Ayres pense que le Demodex pourrait être une des causes de rosacée,⁵⁹ et obtient d'excellents résultats thérapeutiques en éliminant les parasites avec une crème à base de soufre (Danish ointment).^{7,109} Il distingue la **rosacée de type Demodex** (très riche en parasites, avec des squames folliculaires et des pustules superficielles) de la **rosacée d'origine interne** (moins riche en parasites, sans écailles folliculaires, avec une peau grasse et des papulopustules plus profondes et plus inflammatoires).¹⁰⁹ En 1961, il baptise la rosacée de type Demodex « Acne rosacea (Demodex) » ou « Rosacea-like demodicidosis », soit, en français, « démodécie pseudo-rosacée » : une éruption faciale ressemblant cliniquement à la rosacée mais causée par la prolifération de Demodex.^{2,109,139,140}

Ayres finit donc par différencier la démodécie pseudo-rosacée de la rosacée papulopustuleuse (RPP) classique par plusieurs caractéristiques résumées dans le Tableau 2;^{2,109} par la suite, d'autres s'y sont rajoutées : la tendance à

Tableau 2. Différences attribuées classiquement à la démodécie pseudo-rosacée par rapport à la rosacée papulopustuleuse classique (RPP) : d'après Ayres (en 1963) en noir, et ajoutées **par la suite, en bleu.**

	Démodécie pseudo-rosacée	RPP
origine	Demodex	interne (troubles digestifs,...)
présence de Demodex	en grande quantité dans les écailles folliculaires et les pustules	rarement
papules et pustules	petites et superficielles	grosses et profondes
écailles folliculaires	présentes	absentes
peau	sèche	grasse
sexe : plus chez	femmes	hommes
parties du visage atteintes	devant et côtés	devant
flushs/ érythème	moins prononcé	plus prononcé
	survient après le pityriasisfolliculorum	
	des formes mixtes peuvent exister	
disposition préférentielle	plutôt unilatérale	plutôt bilatérale
prurit	fréquent	rare
érythème permanent	possible	obligatoire

l'unilatéralité (suite à la publication de quelques cas isolés seulement)¹⁴¹⁻¹⁴⁶ et au prurit^{80,125,145,147-151} pour la démodécie, et la nécessité de l'érythème permanent pour la rosacée¹⁵² (Fig. 34) (Tableau 2).

Cependant, **aucun de ces critères n'est exclusif ou absolu** et, dans la pratique clinique, la distinction entre ces deux « entités » est souvent très difficile, voire impossible.^{57,126,127,153-155} De plus, déjà à l'époque, Ayres signalait qu'il y avait des « **types mixtes** » de rosacée.²

De façon anecdotique, des variantes de la démodécie pseudo-rosacée¹⁵⁶ particulièrement intenses ont été décrites: avec plaques violacées infiltrées sur le visage correspondant à des granulomes autour de Demodex intradermiques,^{80,157} ou avec œdème/scléroedème unilatéral,^{143,144,158} ou avec croûtes importantes^{153,159} ou d'allure pseudo tumorale,¹⁶⁰ sur le visage ou sur le cuir chevelu.^{115,159} Elles ont été parfois dénommées « Demodex granuloma »,¹⁵⁷ ou « demodicidosis gravis »,⁸⁰ termes qui ne devraient pas être utilisés afin de garder une terminologie simple et claire.

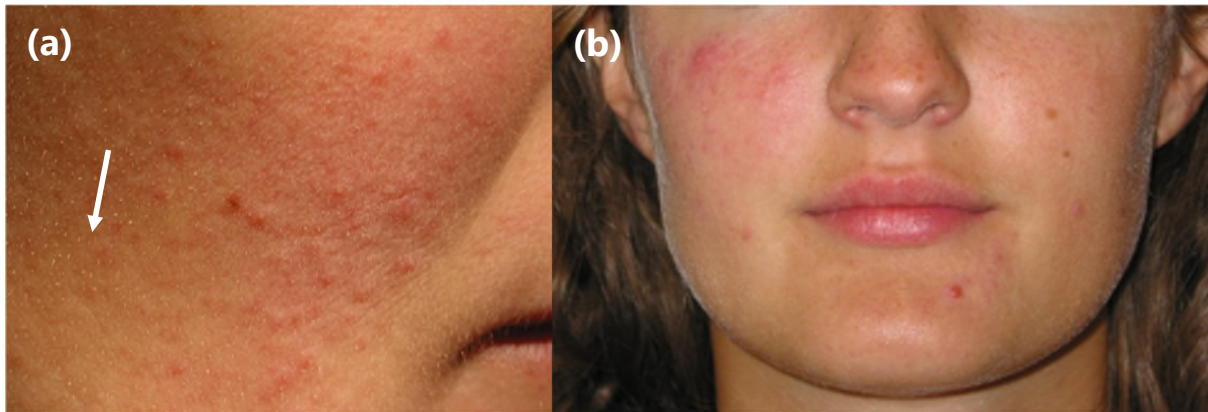


Fig. 34. Démodécie pseudo-rosacée : (a) Joue droite d'une patiente avec pityriasis folliculorum (flèche) sur laquelle apparaissent de discrètes papulopustules très petites et très superficielles (51+436 D/cm²) ; (b) Atteinte unilatérale sur la joue droite d'une autre patiente avec discrètes papulopustules très superficielles (108+216 D/cm² sur la joue droite, 12+20 D/cm² sur la joue gauche).¹⁶¹

1.3.1.3. La démodécie oculaire

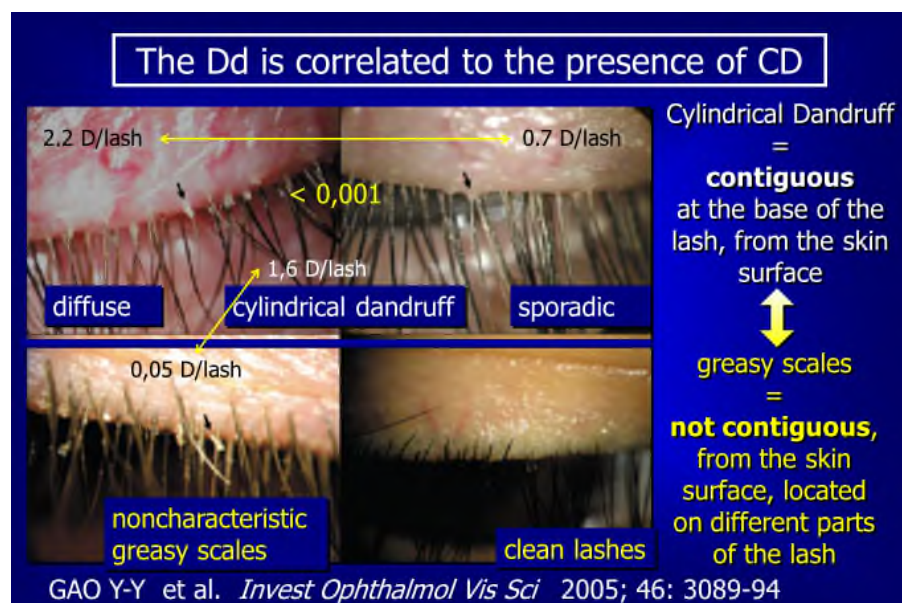
En 1898 et 1929, Rälman et Blackmar décrivent déjà une blépharite à Demodex, avec hyperpigmentation à la base des cils et perte de cils.³ En 1963, Coston décrit les parasites à la base des cils et pense que la blépharite à Demodex doit être considérée comme une entité à part entière ; il constate qu'en épilant 16 cils (4 cils sur chaque paupière), la présence de 1 à 2 Demodex doit être considérée comme normale, tandis que 6 Demodex (ou plus) témoignent d'une surpopulation (ce qui fait une moyenne de 6 D/16 cils = 0,4 D/cil), surtout si 4 à 5 parasites sont observés sur le même cil.⁴ En 1967, Ayres décrit un cas de démodécie pseudo-rosacée sur la partie cutanée d'une paupière supérieure.¹³⁹ En 1969, Smith décrit à nouveau les petites croûtes de 1 à 2 mm enserrant la base des cils comme une caractéristique liée aux blépharites à Demodex,¹⁶² ce que confirme Gao en 2005, les nommant « **cylindrical dandruff** » (CD). Ces squames cylindriques sont nettes, contigues et accrochées à la base des cils, et donc accolées au bord libre de la paupière, contrairement aux squames de la dermatite séborrhéique, qui sont non adhérentes, et localisées à différentes hauteurs

sur les cils (Fig. 35).¹⁶³ Elles sont l'équivalent des écailles folliculaires décrites par Ayres, mais au niveau du bord libre des paupières.

En général, la présence de cylindres cornés est associée à la présence d'au moins un Demodex par cil épilé, et plus si des procédés spéciaux sont utilisés pour augmenter la détection des parasites au sein des bouchons cornés (introduction d'alcool sous la lame couvre objet, suivi d'une attente de 20 minutes, ou usage de fluorescéine).¹⁶³⁻¹⁶⁶ **Une densité de 0,5 à 1 D/cil est ainsi considérée comme pathologique,**^{4,42,163,166-171} tandis qu'une densité en Demodex supérieure à 3 D/cil correspond à une infestation sévère.¹⁷²

Fig. 35. Résumé graphique de l'étude de Gao, établissant un **lien direct entre la densité en Demodex (Dd) au niveau des cils et la présence de squames cylindriques (CD)** régulières et adhérentes à la base des cils. La Dd est plus élevée en cas de cylindres à la base des cils qu'en cas de squames séborrhéiques, et cette

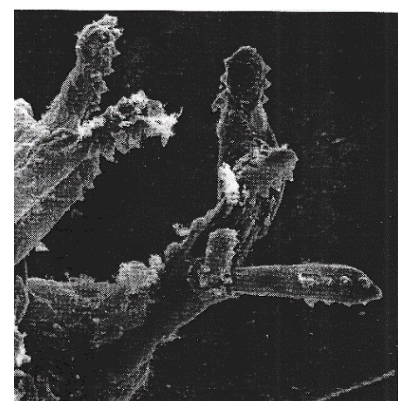
densité est plus élevée si les cylindres atteignent tous les cils de façon diffuse, que si seuls certains cils sont atteints de façon sporadique. Les photographies sont extraites de « Gao YY et al. High prevalence of demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005 ; 46 : 3089-94 ».¹⁶³



En pratique quotidienne, les ophtalmologues visualisent les Demodex avec la lampe à fente :^{4,173-175} ils peuvent enlever le cylindre de squames avec une pince (cylindre qui peut déjà contenir des Demodex (Fig. 36)), et ensuite, sous le grossissement de 40 du microscope à lampe à fente, **manipuler le cil** afin de déranger les *D folliculorum*, qui émergent alors du follicule (Fig. 37).

Fig. 36 : Nombreux Demodex englués dans 2 cylindres cornés prélevés à la pince, photographiés en microscopie électronique à balayage.

Photographie reproduite depuis «Tritten JJ. [Should one mention blepharitis due to *Demodex folliculorum*?]. Rev Med Suisse Romande 1990; 110: 545-548 ».⁷²



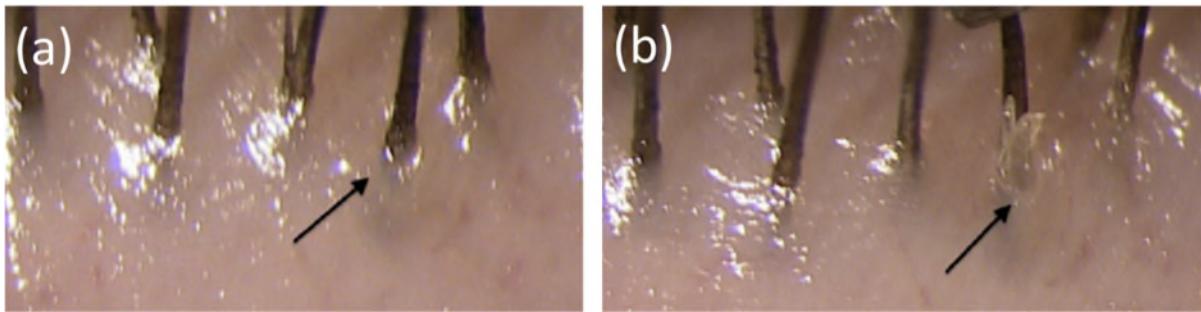


Fig. 37. Base des cils : (a) pas de Demodex visible ; (b) **après rotation du cil sur son axe, les opisthosomes des Demodex ressortent des orifices pilaires.** Ces photos sont reproduites à partir des Figures de « Mastrota KM. Method to Identify Demodex in the Eyelash Follicle Without Epilation: *Optom Vis Sci* 2013; 90: e172–e174 ». ¹⁷⁵

Et en persévérant, Mastrota réussit même à faire sortir des *D brevis*.¹⁷⁵ Cette technique de manipulation de cils a l'avantage de déceler un excès de parasites sans épiler de cils et également de les détecter **même en cas d'absence de cylindre corné**, suite par exemple aux plaintes subjectives du patient.¹⁷⁵ Les mouvements circulaires autour de l'axe du cil^{174,175} seraient moins efficaces que les mouvements latéraux qui semblent, de toutes les méthodes pour mettre le Demodex en évidence au niveau des cils, la plus sensible.¹⁷⁰

Personnellement, en tant que dermatologue, nous nous contentons d'une simple épilation de cil, qui offre une sensibilité suffisante et demande beaucoup moins de manipulations.¹⁶³

La densité de Demodex ne semble pas corrélée à l'intensité de la blépharite,¹⁷¹ **mais elle est bien corrélée au nombre de symptômes observés,**⁴² ceux-ci étant : prurit du bord libre des paupières (28%⁴² à 83%),^{44,174,176} rougeur (21%),⁴⁴ larmoiement (15%), douleur (10%), pus (9%), desquamation et yeux secs (6%), sensation de grain de sable (4%),⁴⁴ de piqûre (4%⁴² à 100%),¹⁷⁴ de brûlure (100%)¹⁷⁴ et **perte de cils** (3%).^{4,42,177} En effet, les cils sont oedématisés, perdent leur souplesse et deviennent cassants ; en cas d'infestation de longue date, ils s'épilent avec beaucoup moins de résistance. De ce fait, certains auteurs suggèrent que le Demodex cause également une maladie du poil, et pourrait également **faire tomber les cheveux.**^{177,178} Cette hypothèse n'est pas complètement fantaisiste étant donné que la colonisation microbienne de l'infundibulum, via des cytokines, induit de l'inflammation et de la fibrose périfolliculaire, et que ces cytokines inhibent la croissance et la survie des cheveux anagènes in vitro.¹⁷⁹ D'autre part, les androgènes sont responsables du développement des follicules pilosébacés...où vivent les Demodex (ils pourraient donc favoriser leur prolifération et leur effet alopeciant), et, dans la démodécie canine, il y a perte des poils.

Outre la blépharite (Fig. 38),^{44,72,163,164,169,171,180–183} d'autres manifestations oculaires ont été décrites mais, plus graves, elles sont essentiellement rencontrées en ophtalmologie : conjonctivite, vascularisation, opacités, perforation et cicatrisation de

la cornée,^{164,165,183} épisclérite, iritis,^{163-166,184} cils mal orientés,¹⁸⁴ dysfonction de la glande de Meibomius, chalazion récidivants¹⁸⁵ (Fig. 39).^{72,74,164,186} Alors que la blépharite antérieure est plutôt attribuée au *D folliculorum*, la blépharite postérieure, avec dysfonction meibomiale, est attribuée au *D brevis*.^{186,187}

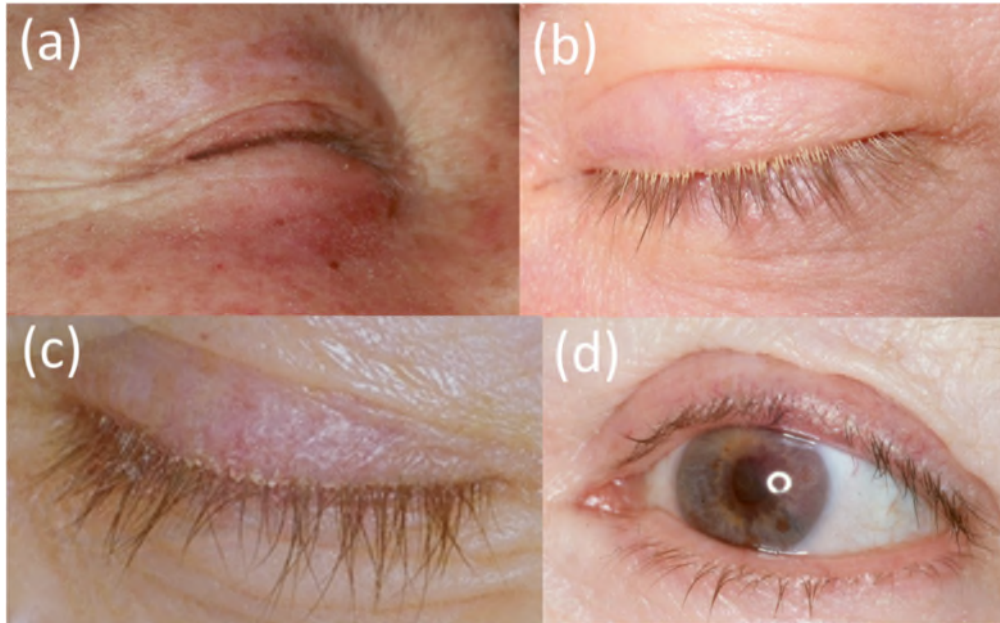
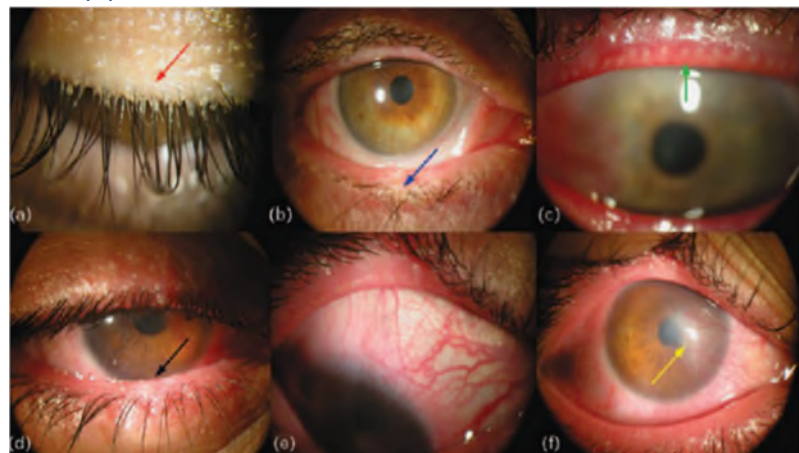


Fig. 38. Atteintes oculaires de 3 patients vus à notre consultation : (a) Patientte présentant un pityriasis folliculorum au niveau de la peau de la paupière inférieure droite (avec 500 D/cm²(§ 3.2.)), associé à l'atteinte du bord libre de la paupière supérieure (présence de squames régulières adhérentes à la base des cils, discret œdème et érythème du bord libre de la paupière supérieure et 8 D/3 cils épilés); (b) Atteinte du bord libre d'une paupière supérieure gauche : squames régulières et adhérentes à la base des cils et blépharite discrète du bord libre (19 D/6 cils); (c, d) : même atteinte chez une autre patiente (5 D/2 cils): les squames paraissent moins « cylindriques » que sur les photos de Gao¹⁶³ (c), mais sont adhérentes, avec blépharite discrète et perte de cils (d).

Fig. 39. Manifestations oculaires de l'infestation par Demodex :

(a) flèche rouge : cylindres cornés typiques à la racine des cils ; (b) flèche bleue : cils mal orientés ; (c) flèche verte : dysfonctionnement de la glande de Meibomius ; (d) flèche noire : inflammation du bord libre ; (e) :



inflammation de la conjonctive bulbaire ; (f) flèche jaune : infiltration vasculaire de la cornée. Figure reproduite depuis « LIU J et al. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2010; 10(5): 505-10 ». ¹⁶⁴

1.3.1.4. Folliculite à Demodex

La folliculite à Demodex se manifeste cliniquement par une folliculite non spécifique, c'est à dire des pustules folliculaires hors du contexte de la rosacée, sans papules, sans érythème persistant et/ou à dispositions non centrofaciales (par exemple au niveau de la barbe,^{126,188} du cuir chevelu,¹⁸⁹⁻¹⁹² du cou,¹⁹¹ du tronc ou/et des membres^{149,193-195}). L'origine non bactérienne de la folliculite est suggérée par la présence d'un pityriasis folliculorum ou d'un autre signe de démodécie associée (Fig. 40). Plus rarement, de véritables abcès ont été décrits.^{146,148,196}

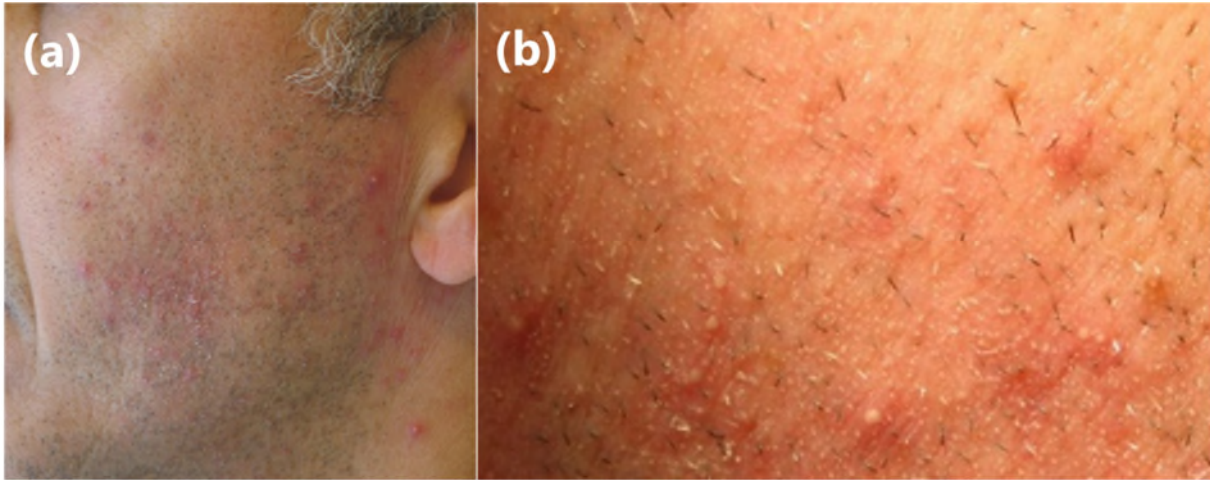


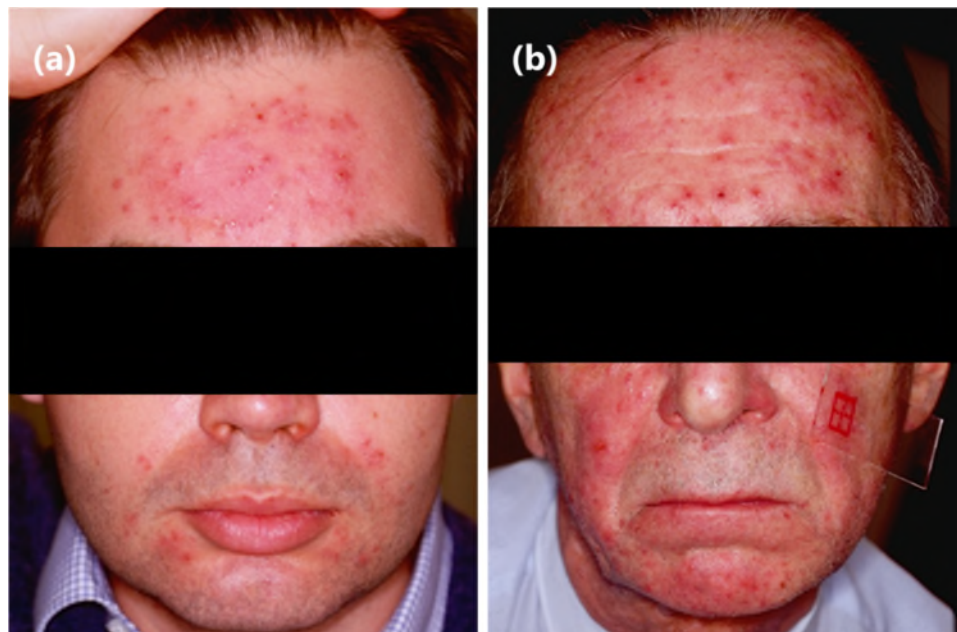
Fig. 40. Folliculite à Demodex au niveau de la barbe, chez un homme de 48 ans : (a) vue de la joue gauche et (b) gros plan de la joue droite (132+448 D/cm²).

1.3.1.5. Prurigo démodécique

Que le patient présente à l'origine une folliculite ou une démodécie pseudo-rosacée, s'il se gratte, ses excoriations feront évoquer alors un tableau clinique de prurigo (Fig. 41).^{149,193}

Fig. 41. Prurigo démodécique

chez deux hommes adultes qui présentaient respectivement 100 D/cm² (a) et 62 D/cm² (b).



1.3.1.6. Pigmentation post inflammatoire

La démodécie peut aussi se manifester par des plages légèrement pigmentées brun clair, avec accentuation autour des follicules, mimant un pityriasis versicolor, de préférence située au menton et sur les lèvres.¹⁰⁹

Dans notre expérience, une pigmentation évoquant un chloasma, associée à un pityriasis folliculorum ou à d'autres signes subjectifs suggérant une démodécie, peut aussi être observée, principalement chez les patients de phototype foncé. A la différence du chloasma ou pseudo chloasma, il n'y a pas de notion de grossesse, ni de trouble hormonal ni de prise de pilule contraceptive (Fig. 42).¹²⁶ Cette pigmentation peut aussi s'observer à la base des cils en cas de blépharite.^{3,167} Nous



pensons qu'il s'agit d'une **pigmentation post inflammatoire**, liée à l'irritation faible mais chronique causée par les parasites en grand nombre.

Fig. 42 : Hyperpigmentation démodécique sur la joue droite d'un homme de 27 ans, de phototype V, présentant 114 D/cm² sur la joue droite et 10 D/cm² sur la joue gauche.¹²⁶

1.3.1.7. Papule ou nodule inflammatoire isolé

Décrite par Seifert en 1978, la papule inflammatoire isolée¹⁹⁷ n'a rien de spécifique cliniquement : elle est similaire aux papules de la démodécie pseudo-rosacée, ou de la rosacée, mais est unique et associée à un pityriasis folliculorum ou d'autres signes subjectifs suggérant une démodécie (Fig. 43).

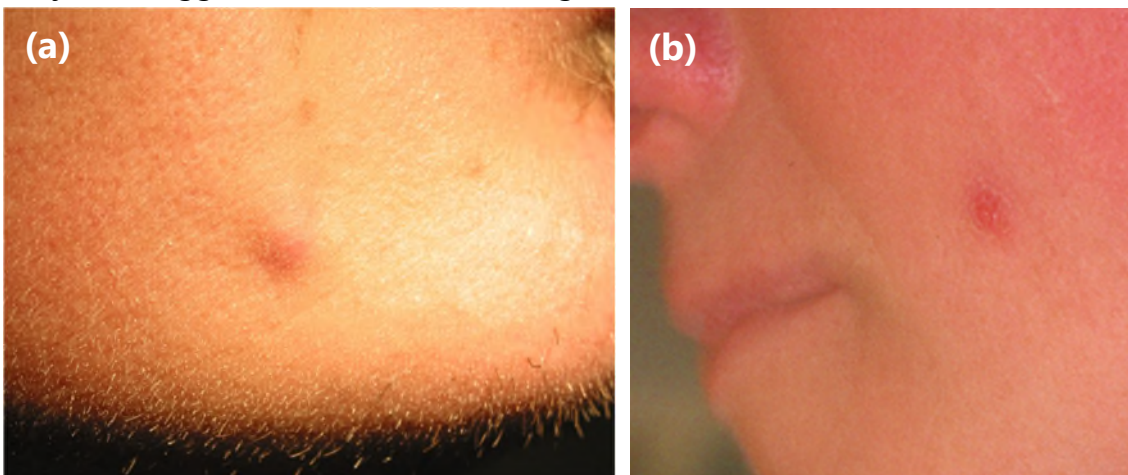


Fig. 43 : Papules inflammatoires démodéciques isolées :

(a) Bas de la joue droite, près du menton, d'un homme de 31 ans : nodule inflammatoire isolé associé à un pityriasis folliculorum. Il présentait 384 D/cm².
(b) Papule excoriée isolée sur la joue gauche d'une femme de 41 ans (90 D/cm²).¹²⁶

1.3.1.8. Eczématides folliculaires

Nous avons décrit cette variante clinique en 2005, lors d'une étude épidémiologique (§ 3.6, Fig. 44) : la peau est irrégulièrement érythémateuse, squameuse avec des squames non-folliculaires, mamelonnée en « peau d'orange », les pores sont dilatés et elle peut bien sûr être associée aux squames folliculaires ou autres signes subjectifs de démodicie. La clinique est plutôt à mi-chemin entre une rosacée et une dermite irritative, eczématiforme.¹²⁶



Fig. 44. Eczématides folliculaires sur la joue et le menton d'une femme de 45 ans : érythème, pores dilatés sur le menton, peau mamelonnée en « peau d'orange », quelques papules et squames non folliculaires (flèche) ; l'aspect anormal de la peau est plus évident s'il est comparé à la peau du cou, dans le coin inférieur gauche de la photo,

qui est claire, régulière, non irritée, non eczématiforme. Elle présentait 129 D/cm².¹²⁶

1.3.2. Histologie

L'histologie des démodicies n'a été que modérément étudiée car la plupart du temps, aucune biopsie classique, sanglante, n'est effectuée par les dermatologues dans ce type d'affection. A l'origine, Ayres a décrit, dans le **pityriasis folliculorum**, une hyperkératose modérée, avec accentuation au niveau de l'orifice pileux qui est dilaté, le canal folliculaire rempli de *D. folliculorum*, ainsi qu'un infiltrat lymphocytaire dermique modéré du derme superficiel et moyen, périvasculaire et diffus, avec quelques dilatations vasculaires.¹⁰⁹

Par la suite, ces données ont été confirmées, et aussi dans d'**autres démodicies** : l'hyperkératose,^{14,37,45,74,131} l'hyperplasie épithéliale^{74,198} et les nombreux Demodex dans les infundibulums folliculaires dilatés et enflammés^{38,74,127,131,144} (jusqu'à 200 dans un seul follicule).^{1,45} Un matériel éosinophile dense entourant les parasites a aussi été décrit,^{38,45} de même que l'hyperplasie glandulaire,¹⁹⁸ l'hyperplasie mélanocytaire⁷⁴ et la rupture du poil.⁴⁵ **L'infiltrat lymphohistocytaire³⁷ dense périvasculaire et périfolliculaire est associé à la présence des parasites au sein des follicules** (§ 3.1) ;^{34,38,75,199,200} il contient souvent d'abondants neutrophiles^{127,196} et occasionnellement des cellules géantes dans des granulomes sans caséification,^{14,34,38,75,127} autour de Demodex intradermiques.^{12,14,52,78-80,201} Parfois l'infiltrat peut fortement abîmer la glande sébacée.⁴⁷

Une étude immunohistochimique (des lymphocytes CD4⁺ sanguins reliés à la peau) a montré que, chez les patients atteints de démodécie (avec ou sans rosacée), il y avait **plus de lymphocytes Th9** que chez les contrôles ; chez les patients atteints de démodécie sans rosacée, il y avait **plus de T régulateurs** (comparé aux patients avec démodécie avec rosacée et aux contrôles) et moins de lymphocytes Th1 et Th2 que chez les patients avec démodécie avec rosacée.²⁰²

Les pustules des folliculites correspondent à un amas de neutrophiles ou de lymphocytes intra ou périfolliculaires avec granulomes occasionnels.^{190,191} La papule inflammatoire isolée correspond à un granulome tuberculoïde autour d'un acarien intradermique.¹⁹⁷

Pour déceler les parasites, **la biopsie classique est cependant relativement peu performante** car le morceau prélevé est généralement petit (vu que la biopsie est souvent effectuée sur le visage) et l'intervalle entre 2 coupes est généralement de 25 à 50 µm.⁵¹ Le parasite dont l'opisthosome a une largeur de 31-44 µm peut donc « passer entre » deux coupes successives et ne pas être visualisé,⁵¹ d'autant que beaucoup de coupes ne contiennent même pas un seul follicule.³⁸ Tout cela explique que seulement 10% des biopsies contiennent des Demodex.³⁸

Des coupes plus épaisses (10 µm à la place de 5 µm),⁶⁰ ou/et des coupes sériées (à 20 µm d'intervalle)²⁰³ pourraient théoriquement augmenter les chances de visualiser le parasite, ainsi que l'usage d'une technique d'immunohistochimie consistant à **marquer l'antigène «Thomsen nouveau » (Tn)**, un précurseur de l'antigène T tumoral de Thomsen-Friedenreich, qui est exprimé à la surface et à l'intérieur même du Demodex.²⁰⁴

1.3.3. Diagnostic

En pratique, des **signes et symptômes non spécifiques** suggèrent le diagnostic (§ 1.3.1) : plaintes de peau sensible, sèche, rugueuse, accrochant le maquillage, irrégulière, en peau d'orange, prurit, pores dilatés, écailles folliculaires, rougeurs, macules, papules ou pustules folliculaires, éruption eczématiforme atypique, folliculite, papule inflammatoire isolée, pigmentation, symptômes oculaires.^{2,6,109,111,112,126,139,165,188,197}

Le diagnostic est confirmé par la présence d'une « grande quantité »,^{2,6,59,109,139,140} et, depuis nos premiers travaux (§ 3.2), d'une « grande densité » de Demodex^{51,110,111,126,127,205} et entériné par le succès du traitement acaricide (disparition des signes et symptômes cliniques avec normalisation de la densité Demodex).^{6,7,59,110,165,188,205}

Différentes méthodes ont permis de mettre le Demodex en évidence : tout d'abord, le **passage à l'éther** qui, outre sa fonction de nettoyage/dégraissage, ferait

aussi sortir les parasites des follicules, les rendant ainsi plus visibles à l'œil nu (§ 3.3.). Ensuite, les parasites peuvent être **prélevés** par différentes techniques : en prenant les écailles folliculaires à la pince,¹⁰⁹ le papier collant,^{40,58} le grattage simple,^{113,125,141,150,206,207} ou combiné à l'utilisation d'un ruban adhésif pour attraper les squames, et/ou l'extrusion du contenu folliculaire par pincement de la peau entre les doigts,^{36,41,56,129,131,208-211} la ponction de pustules,^{2,7,193} la biopsie classique,^{118,149} la biopsie de surface,⁵⁷ et la biopsie cutanée de surface standardisée (SSSB)⁵¹ qui est devenue la méthode de choix en pratique clinique (§ 3.2.), mais qui est aussi limitée dans sa version de base (§ 3.3.), et que nous avons perfectionnée²¹² (§ 4.1.4.). Dans le cadre de la recherche, une publication mentionne l'utilisation d'une « cire hydrophile chauffée au micro-onde puis retirée avec une bande », vraisemblablement assimilable à une bande adhésive, pour analyse subséquente par PCR.²¹³

Par ailleurs, les parasites peuvent aussi être **détectés sans être prélevés**, par microscopie confocale (§ 3.10.) et tomographie par cohérence optique,²¹⁴ méthodes qui nous semblent, pour le moment, plutôt destinées à la recherche clinique, mais également par **dermatoscopie**. Celle-ci commence à être proposée comme méthode de détection rapide d'une pullulation de parasite : ils y apparaissent sous forme de structures linéaires blanchâtres et « crémeuses » remplissant les orifices folliculaires.^{138,215-217} Cette méthode nous paraît moins sensible, moins spécifique et moins précise que la SSSB : est-elle capable, comme la SSSB,¹³⁴ de différencier les amas de Demodex des amas de poils vellus (trichostasis) ou d'une hyperkératose folliculaire ? et d'évaluer la densité en parasites ?

Au niveau oculaire, rappelons l'épilation de cils^{4,42,163-170} et la lampe à fente combinée éventuellement aux mouvements des cils à la pince (§ 1.3.1.3.).^{4,170,173-175,175}

Le choix de la méthode est essentiel. Certaines méthodes sont trop peu sensibles vis-à-vis des buts recherchés et aboutissent à des conclusions erronées, comme une prévalence relativement faible du parasite dans la peau humaine (§ 1.1.3.),^{19,37-39,41,45,47,48,218} ou une absence de prolifération dans la rosacée (§ 3.2.),^{203,219} ou une trop grande proportion de RPP sans infestation (44% en pratiquant une seule SSSB sans passage à l'éther)²⁰² (§ 3.3.). Dès lors, les études cliniques qui étudient un paramètre en relation avec la prévalence ou la densité du parasite, mais qui utilisent une méthode très peu sensible pour le détecter (comme l'histologie classique,²²⁰ ou même la SSSB unique sans passage à l'éther)²⁰² sont difficilement interprétables, vu que la sélection des patients (+/- pour le Demodex) est biaisée par les faux négatifs (§ 3.8). De plus, pour les mêmes raisons, certaines études demandent à être vérifiées: par exemple, une analyse de biopsies de folliculites de scalp qui ne trouve que très peu de cas où le Demodex peut être incriminé (4/333).¹⁹⁰

1.3.4. Facteurs favorisants

En plus de l'absence de nettoyage à l'eau et au savon combiné à l'emploi abusif de **cosmétiques**,^{6,7,59,109} une **hygiène faible** (sans serviette personnelle, lavage 1x/j par rapport à 3x/j),^{129,221} et d'autres facteurs sont soupçonnés favoriser la prolifération du parasite: **l'âge**,^{19,34,36-44} la **localisation jugale**,²²²⁻²²⁴ les zones riches en **glandes sébacées** ou en sébum,^{1,33,34,46} l'hyperplasie sébacée,^{40,129} la **rosacée érythématotélangiectasique** (RET).^{111,205,225-231}

L'influence du **sexe** est ambiguë, les hommes étant plus infestés que les femmes dans certaines études^{38,41,44,232} mais pas dans toutes.^{52,129,222,233} De même, les **corticoïdes** semblent liés à une plus haute infestation,^{129,206,224,234-236} mais pas dans toutes les études (mais certaines utilisent une méthode peu sensible pour la mettre en évidence).^{51,236-239}

Les relations avec la **quantité de sébum** sont non seulement divergentes mais aussi ambiguës : Falay *et al* observent une densité en Demodex plus grande quand la quantité de sébum augmente (mais n'observent pas de quantité plus grande de sébum dans la rosacée par rapport aux contrôles)²⁴⁰ alors que Aydingoz *et al* ne retrouvent pas cette augmentation de densité chez des patients qui ont des quantités de sébum augmentées,²⁴¹⁻²⁴³ et que d'autres trouvent une quantité de sébum diminuée chez les patients avec démodicie (mais non significativement)²⁴⁴ et dans la rosacée.^{206,245} Cette quantité plus faible de sébum observée par certains,^{206,244,245} ainsi que d'autres facteurs qui ont été associés à une prolifération en Demodex (une composition modifiée du sébum,^{244,246} un degré d'hydratation moindre^{222,244} un pH alcalin de la peau²⁴⁴), pourraient, en fait, être plutôt une conséquence de leur prolifération que des facteurs favorisant leur pullulation, au vu de la dysfonction des glandes de Meibomius que le Demodex provoque au niveau oculaire (§ 5.2.1.3.).

Une étude a montré une association avec la prise de médicament.²²²

Aucune influence statistiquement significative n'a été remarquée pour : les habitudes alimentaires,¹²⁹ l'habitat à la campagne ou à la ville,¹²⁹ la température cutanée.^{221,222}

Différentes observations suggèrent qu'une **immunodépression** peut favoriser leur prolifération : (1) La survenue de démodicie chez des patients immunodéprimés (SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise),^{118,120,125,145,149,150,193,195,247-251} leucémies ou autres cancers traités par chimiothérapie^{116,117,119,121,122,252} ou par bain d'électrons¹⁹⁴) ; (2) ou suite à un traitement diminuant l'immunité locale (tacrolimus);^{253,254} (3) une Dd anormalement élevée chez des patients atteints de diabète²⁵⁵ type 2²⁵⁶ avec mauvais contrôle de la glycémie,²⁵⁷ ou atteints de diabète gestationnel,²⁵⁸ d'insuffisance rénale au stade terminal,²⁵⁹ d'anémie falciforme,²⁶⁰ ou de malnutrition.²⁶¹ En comparant avec un groupe contrôle, Kaya a montré que chez

les enfants, la malnutrition et le cancer augmentaient le risque de trouver le parasite de 17 et 27 fois, respectivement. De plus, après traitement de leur pathologie principale, le Demodex n'était plus retrouvé.²⁶¹ Les démodécies pseudo-rosacée sont en outre les effets secondaires les plus fréquents des inhibiteurs du récepteur du facteur de croissance épidermique utilisés dans certains cancers et responsables également d'autres complications infectieuses.²⁶² Plusieurs auteurs ont remarqué, chez leurs patients atteints du SIDA, que **la démodécie était devenue cliniquement évidente lorsque l'immunité des patients avait été restaurée.**^{117,122,150,195,247}

En 2003, Akilov et Mumcuoglu ont montré une association entre les démodécies et certains haplotypes HLA (Cw2 et Cw4), suggérant ainsi une prédisposition génétique à développer une démodécie.²⁶³ En 2004, ils ont montré qu'une haute densité en Demodex dans la peau était **associée à une diminution de l'immunité cellulaire et à une tendance à l'apoptose des lymphocytes circulants**, ceci pouvant résulter d'une immunosuppression locale induite par le Demodex afin de permettre sa survie.²⁶⁴

Des cas familiaux de démodécies cutanées et oculaires ont été tout récemment attribués à une mutation du gène STAT1 (signal transducer and activator of transcription 1 = transducteur de signal et activateur de transcription 1).^{265,266} Le STAT1 est un facteur de transcription qui contrôle de nombreux effets biologiques du système immunitaire (interférons, récepteurs de cytokines) dans de nombreux types de cellules,²⁶⁷ et la mutation de son gène induit un **déficit de la fonction des Th17**, avec moindre production d'IL-17 et IL-22,²⁶⁵ provoquant un large éventail de maladies auto-immunes, inflammatoires et infectieuses.²⁶⁵

Cependant, la plupart des démodécies sont observées chez des patients apparemment immunocompétents (§ 3.6.),^{51,109,113–115,126,131,268} et tous les sujets ayant une immunosuppression^{51,241–243,269} n'ont pas une densité élevée en Demodex : **il n'y a pas un seul facteur influençant la prolifération du Demodex, mais de multiples facteurs qui interagissent.**

1.3.5. Le Demodex & les cancers cutanés

En raison de son ubiquité et de la haute prévalence des démodécies, le Demodex a été retrouvé dans des biopsies de tous ordres et a ainsi été soupçonné de provoquer des pathologies aussi disparates que le mélanome, le carcinome basocellulaire, le cancer du sein, etc.²⁷⁰ Erbagci *et al* ont trouvé une plus grande prévalence (65,5% vs 23,53% (p<0,001)) et une plus grande Dd (qui reste toutefois très basse)(1,31±1,57 vs 0,47±0,99 D/follicule (p=0,0052)) dans des biopsies de paupières en cas de carcinome basocellulaire que chez des contrôles et soupçonnent que le Demodex pourrait favoriser les cancers cutanés via son action immunosuppressive locale.²⁷¹

Quoique possible, cette hypothèse reste à confirmer car : (1) la biopsie n'est pas un bon moyen de dépister les parasites (§ 3.2.), (2) les expositions cumulées aux UVs induisent à la fois la RET (favorisant également la pullulation des parasites (§ 4.2.6. et 5.2.1.1. A.4.b.)) et les dégâts de l'ADN responsables des cancers cutanés ; ce qui paraît amplement suffisant pour expliquer l'association.

1.3.6. Le Demodex & les bactéries

Au siècle dernier, le Demodex a aussi été soupçonné de servir de vecteur à toute une série de bactéries ou de virus, comme *le Mycobacterium leprae*, les *Rickettsia*, l'*Herpes simplex*, etc.^{270,272} Aujourd'hui, cette idée est abandonnée, tandis que l'interaction du parasite avec les bactéries a fait son chemin, entre autres grâce aux techniques récentes de biologie moléculaire, qui amplifient par PCR les gènes des bactéries. Ces techniques ont permis de mettre en évidence des bactéries qui ne prolifèrent pas en milieu de culture standard et qui n'étaient donc pas détectées précédemment.

Certaines de ces interactions sont analysées en détails dans d'autres paragraphes :

- le ***Staphylococcus epidermidis*** est la bactérie la plus souvent retrouvée au frottis bactériologique classique, dans la rosacée (§ 1.4.8.3.) et dans les démodicéies ;^{255,273,274} elle interagit probablement occasionnellement avec le Demodex (§ 3.9. et 4.2.7.) ;
- le Demodex porte des bactéries sur sa cuticule²⁷² et en ingère également, vu qu'il ne vit pas dans un environnement stérile : tout en se nourrissant de nos cellules folliculaires, il ingère aussi les bactéries qui sont à la surface des cellules et dans le sébum. Murillo *et al* ont ainsi mis en évidence une **incroyable diversité de germes à l'intérieur des Demodex** : 86 espèces, dont 36 seraient propres au Demodex, ont été mises en évidence par PCR, sur des fragments de Demodex lavés/stérilisés extérieurement.²⁷⁵ Ces bactéries préfèrent peut-être des conditions anaérobies, ce qui pourrait expliquer qu'elles soient moins facilement détectées dans les culture classiques ;⁷¹
- à l'inverse, Clanner-Engelshofen *et al* n'ont isolé qu'**une seule espèce de bactérie** à partir de Demodex nettoyés et disséqués : une sous-espèce de ***Corynebacterium kroppenstedtii***, qui semble participer à la physiologie du parasite et est donc considérée comme endosymbiotique (§ 1.1.4.2. C.) ;⁶⁷
- tandis que le ***Bacillus oleronius***,²⁷⁶ souvent évoqué dans la littérature, semble plutôt anecdotique (§ 3.9),^{71,205,275} comme les quelques bactéries mises en évidence dans des rapports de cas isolés, par simple frottis bactériologique de la peau de patients atteints de rosacée^{138,217} et de rosacée stéroïdienne.²⁷⁷

1.3.7. Traitement

1.3.7.1. Traitement des démodécies cutanées

Plusieurs molécules ont été citées dans des « case reports », comme ayant fait diminuer la quantité de Demodex et amélioré ou guéri les symptômes de démodécies :

- des **traitements locaux** à base de: composés soufrés,^{6,7,57,109,139,140,156,184,194,251} benzoate de benzyle,²⁰⁷ crotamiton,^{142,188} lindane (actuellement interdit),^{150,193} oxyde jaune de mercure,¹¹⁵ malathion,¹⁴⁹ métronidazole,^{114,278} perméthrine,^{117,145,150} ou des combinaisons de ces différents traitements (entre eux ou avec un autre topique);^{80,131,131,153,208,279,280} huile de Camphre (Eucalyptus globulus);²⁸¹
- des **traitements oraux** par : ivermectine seul¹⁵¹ ou combiné (au crotamiton topique,¹⁴⁴ ou à la perméthrine topique),¹⁵⁹ et métronidazole per os seul^{148,196} ou combiné (au métronidazole topique¹⁵³ ou au crotamiton).¹⁴¹

Certains rapports de cas font état d'un effet clinique sur des lésions riches en Demodex mais sans contrôle de leur disparition après traitement : composés soufrés,¹²³ crotamiton,^{125,137} perméthrine,¹²² **métronidazole per os** associé au métronidazole topique,¹²¹ **ivermectine per os** seul^{247,282} ou associé au métronidazole topique,¹⁴³ ou à la perméthrine topique.¹⁴⁶

Deux études contrôlées ont confirmé l'effet acaricide de la crème de **perméthrine** 2x/j,^{283,284} mais celle-ci s'est aussi montrée inefficace dans des rapports de cas.^{123,148} Une étude a constaté que le **métronidazole** per os augmente nettement l'effet acaricide de l'ivermectine per os quand il y est associé.²⁸⁵ Un analogue du métronidazole ayant une plus longue demi-vie, l'**ornidazole** per os, a montré, dans une étude chinoise peu claire où ces traitements sont donnés 14 jours seulement, une efficacité acaricide et clinique plus grande que le métronidazole per os, avec moins de récurrences (en étant combiné à une injection de bétaméthasone (pour éviter rebond) et à l'application locale de « facteur de croissance recombinant de base des fibroblastes bovins » (traitement inhabituel en Belgique)).²⁸⁶

L'action de l'ivermectine per os sur le Demodex n'est pas constante¹⁹⁶ et n'a jamais été réellement confirmée, d'autant plus sur le long terme, puisque le traitement est fort limité dans le temps (1 semaine). Par ailleurs, le métronidazole a aussi été rapporté inefficace sur les Demodex tant par voie locale,^{123,125,148} que par voie générale,^{141,142} et, dans une expérience relativement sommaire, il a été observé survivre in vitro à une concentration de 1 mg/ml, qui ne peut pas être obtenue in vivo,²⁸⁷ les auteurs suggérant dès lors que, in vivo, il pourrait agir, non pas directement, mais via un de ses métabolites.²⁸⁸

Aucune recommandation ne peut être dégagée actuellement de la littérature, mais la perméthrine, dont l'efficacité est documentée par 2 études contrôlées, est proposée en première intention par une revue récente sur le sujet.²⁸⁹ Chez les quelques patients chez qui nous l'avons utilisée, la perméthrine ne s'est pas montrée très efficace.

Dans notre pratique quotidienne, suite à notre étude de 1998 ayant comparé l'effet acaricide des molécules les plus prometteuses sur le Demodex (§ 3.4.), nous avons personnellement traité nos patients préférentiellement avec une crème magistrale à base de **benzoate de benzyle** (contenant aussi du crotamiton) avec des résultats très satisfaisants (§ 4.2.8.). Cette crème a aussi été utilisée pendant des années par quelques dermatologues en Belgique. En 2014, **l'ivermectine en topique** est arrivée marché pour traiter la rosacée (§ 1.4.9.2.) et son effet acaricide sur le Demodex a été démontré in vivo.²⁹⁰⁻²⁹² Nous l'utilisons avec succès, comme probablement beaucoup d'autres,²⁹³ pour traiter les patients atteints de démodécie dans notre consultation. Selon notre expérience, elle est au moins aussi efficace que la préparation magistrale à base de benzoate de benzyle, à la fois sur les Demodex et sur les symptômes, mais est beaucoup mieux tolérée. Elle est donc devenue notre traitement de choix pour traiter les démodécies.

1.3.7.2. Traitement des démodécies oculaires

Le traitement des démodécies oculaires est semblable au traitement de la rosacée oculaire (§ 1.4.9.1. D.). D'autres traitements ont été décrits dans la littérature, de façon plus ou moins documentée, la plupart sous forme de « case reports ». Dans le passé, tous s'accordaient pour d'abord **nettoyer** les paupières (peu importe le produit du moment qu'il nettoie les paupières :⁴ une solution d'acide borique saturée 3-4x/j, shampooing pour bébé,¹⁶³ solution aqueuse Zephiran 1:7,000-1:10,000)¹⁶⁷ et ensuite, **appliquer un onguent ophtalmique** (pilocarpine,^{176,279} métronidazole gel,²⁷⁸ onguent à l'oxyde de mercure^{167,169} (1%,^{4,156,167} 2%),¹⁶⁹ composés soufrés (onguent soufré à 1%, sodium sulfacétamide à 10%, disulfide de sélénium 0.5% avec 0.5% d'hydrocortisone (Selsunef ®)),^{4,167,184} ou nettoyage à l'éther/alcool à deux reprises par l'ophtalmologue, après anesthésie de surface (§ 3.3. partie commentaires).^{4,72}

L'**ivermectine per os** (200 µg/kg 2x à 1 semaine d'intervalle,²⁹⁴ seule ou en combinaison avec le métronidazole per os)²⁸⁵ a été utilisé avec succès en cas de blépharite à Demodex, avec amélioration des symptômes, disparitions des parasites et amélioration²⁹⁴ ou non²⁹⁵ du test de temps de rupture du film lacrymal et amélioration du test de Schirmer.²⁹⁴

Depuis quelques années, **le principe actif de l'huile essentielle d'arbre à thé (tea tree oil (TTO)) s'est imposé dans la pratique**. La TTO a d'abord été rapportée efficace pour tuer les Demodex,^{165,296} améliorer les symptômes oculaires^{43,165} et

diminuer les IL-1 β et IL-17 :¹⁶⁵ elle était utilisée à une concentration de 50% pour nettoyer le bord libre des paupières 1x/semaine au cabinet de l'ophtalmologue selon un protocole assez compliqué, en association à des massages 2x/j à domicile, paupières closes, avec un shampooing à base de 10% TTO pendant 2-5 minutes, suivie du rinçage à l'eau de robinet et à un traitement quotidien du visage, du cou et du cuir chevelu avec ce même shampooing.²⁹⁶ Ensuite, l'application d'un onguent à base de TTO 5% durant 4 semaines a été proposée.¹⁶⁴

Et enfin, le principe acaricide le plus actif en a été identifié et isolé : le **terpinène-4-ol**, ingrédient le plus abondant du TTO, qui, in vitro, s'est même révélé acaricide à une concentration de seulement 1%.²⁹⁷ Son activité acaricide, à une concentration de 4%, est plus puissante que celles d'autres molécules.²⁹⁸ Ainsi, actuellement, la démodécie oculaire se traite par un **geste unique** : un nettoyage du bord libre des paupières avec des compresses imbibées de terpinène-4-ol (Blephadmodex®, Cliradex®) à raison de 1-2x/j pendant 4 semaines ou plus si nécessaire (Fig. 45).^{43,187,299}

Ce traitement est aussi efficace quand, après nettoyage des paupières avec une compresse chaude pendant 5 minutes, il est appliqué en 2 périodes (2 semaines de traitement, interruption de 7 à 10 jours, puis à nouveau 2 semaines de traitement), tant sur les symptômes que sur la qualité du film lacrymal, et ne donne que 7% de récurrence après 1 an.¹⁷⁴

Le TTO, et le terpinène-4-ol particulièrement, ont une **activité anti-cholinestérase**³⁰⁰ qui est responsable de l'effet acaricide. Cependant, le TTO agit également par d'autres voies : il a des propriétés anti-inflammatoires, immuno-modulatrices, antioxydantes, antibactériennes (il dissout les parois des bactéries) et anti-prurigineuses.^{300,301} Par son activité anti-cholinestérase, il pourrait également empêcher la dégradation de l'ACh dans les connexions synaptiques de la peau et potentialiser l'action anti-inflammatoire de l'ACh impliquée dans le réflexe inflammatoire neuro-immunitaire (§ 7.3.4.). Des résistances bactériennes ou parasitaires n'ont jamais été rapportées.^{300,301} En outre, il ne provoque que peu d'effets secondaires en application locale, essentiellement irritatifs.³⁰⁰ Il est très volatile (98% de l'huile s'évaporant endéans les 4 heures après son application) et ne pénètre pas profondément dans la peau.³⁰² Par contre, il ne peut pas être ingéré car il est très toxique, pouvant provoquer diarrhée, hallucinations et coma.³⁰⁰ **Ce traitement est sans nul doute extrêmement prometteur** pour traiter non seulement le scabies,³⁰¹ mais aussi les démodécies cutanées.^{300,303} Malheureusement, il n'est pas développé commercialement car il n'est pas rentable : les études nécessaires à son développement n'aboutiraient pas à un médicament brevetable étant donné que ses multiples propriétés sont déjà largement connues.³⁰¹

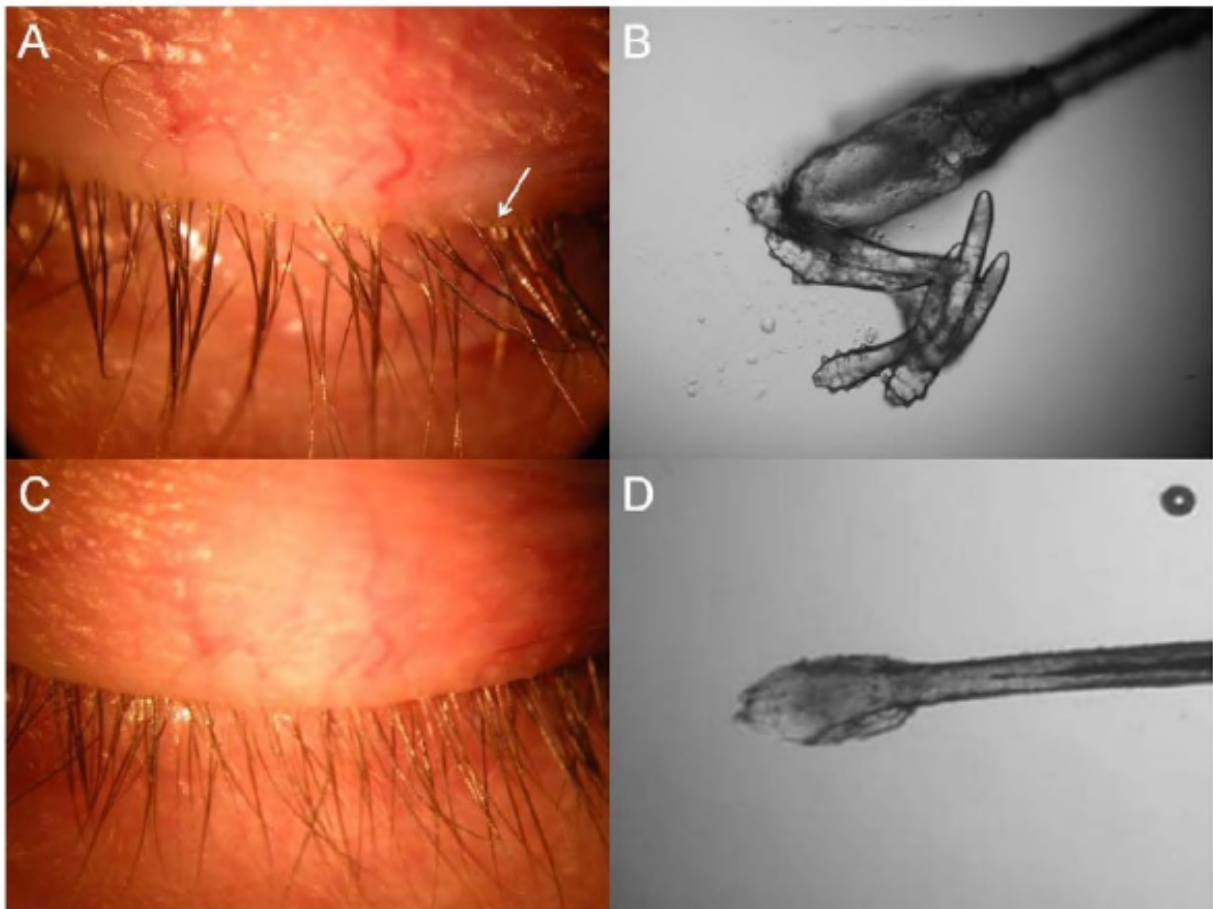


Fig. 45. Effet in vivo du Terpinen-4-ol sur les Demodex : le patient applique 2x/j le nettoyant aqueux à base de Terpinen-4-ol sur les paupières fermées ; après une minute, il peut ouvrir les yeux. Les pellicules cylindriques trouvées avant traitement sur de nombreux cils (A, flèche) ainsi que les acariens détectés lors d'un examen microscopique des cils épilés (B) ont disparu après 8 semaines de (C et D). Photos reproduites depuis « Tighes S *et al.* Terpinen-4-ol is the most active ingredient of tea tree oil to kill Demodex mites. *Trans Vis Sci Tech.* 2013; 2(7): 2. ».²⁹⁷

1.4. La rosacée

1.4.1. Introduction-description générale

La rosacée est considérée comme un syndrome cutané inflammatoire d'évolution chronique, souvent caractérisé par des rémissions et exacerbations, qui se développe essentiellement chez l'adulte, en général entre 30 et 50 ans, mais qui peut aussi se rencontrer chez l'enfant.^{282,304-306} Elle se manifeste principalement sur les parties convexes centrales du visage (joues, menton, nez et front) par la survenue d'érythème facial persistant, de papules, de pustules, de télangiectasies et de bouffées de chaleur récurrentes, ainsi que par des phymas (hypertrophie des glandes sébacées et fibrose).^{307,308} Elle s'accompagne de signes subjectifs tels qu'une sensation de peau hypersensible, irritable, hyper-réactive, de peau sèche, de brûlures, de picotements. Elle peut être uni- ou bilatérale, et une sensation de prurit, quoique non classique, peut se rencontrer.³⁰⁹ Des possibilités de rosacées extra-faciales ont été mentionnées : sur le crâne chauve^{56,310,311} ou chevelu,³¹² ou en rétro-auriculaire,³⁰⁹ sur le haut du dos et le thorax,^{56,313} certains parlant même de rosacée disséminée sur les bras²⁰⁶ et les jambes.⁵⁶

1.4.2. Epidémiologie

Les études épidémiologiques montrent une grande variation de la prévalence de la rosacée d'après les pays : de moins de **1% à 22%**.³⁰⁸ Cette variation est probablement en partie liée à des différences de prédisposition génétique, mais pourrait également découler de l'absence d'une définition claire de la rosacée,³⁰⁹ de l'inclusion, ou non, de tous les sous-types de rosacée, et de la confirmation, ou non, du diagnostic par un dermatologue et du mode de sélection des patients.³¹⁴ Les études effectuées dans des populations à phototypes clairs montrent une prévalence qui varie d'environ 5,0% en Russie à 12,3% en Allemagne,³⁰⁷ et 10 % en Suède.³¹⁵ La prévalence dans les pays du Nord de l'Europe est ainsi sans doute proche **de 5 % ou même de 10 %** si on inclut toutes les formes.³¹⁴ Mais elle a été décrite également chez les Asiatiques, les Latino-américains, Afro-Américains et Africains.^{307,316} Une méta-analyse de 2018, rassemblant 32 études, 41 populations d'origines diverses (22 européennes, 3 africaines, 4 asiatiques, 9 nord-américaines et 3 sud-américaines) et 26.519.836 patients, montre que la prévalence globale est de **5,5%** de la population adulte, et de 2,4% parmi les patients consultant en dermatologie.³¹⁶ Aucune variation de prévalence n'est observée en fonction de la latitude.³¹⁶ Cette étude confirme que la rosacée est **surtout rencontrée entre 45 et 60 ans**, mais, fait surprenant, elle ne retrouve pas de différence significative de prévalence entre les hommes et les femmes, alors que les femmes sont notoirement plus souvent atteintes dans nos

pays.³¹⁶ Peut-être la différence dans nos pays est-elle due au fait que les femmes consultent plus que les hommes pour ce genre de motif.^{316,317} Une étude récente, réalisée par screening en 2 étapes, en Allemagne et en Russie, rapporte 75% de femmes, un âge moyen de 40 ans et surtout des **phototypes II et III**.³⁰⁷ Bien que la subdivision en sous-types de rosacée soit actuellement controversée (§ 1.4.3), cette étude a montré que **le sous-type I** (rosacée érythématotélangiectasique (RET)) est le plus fréquent, à peu près **4 fois plus fréquent que le sous-type II** (rosacée papulopustuleuse (RPP)) (en Allemagne 9,2% versus 3,1%, en Russie : 4,0% versus 0,9%), le sous-type III ou phymateux n'étant observé que dans 0,5% et 0,2% des populations respectives, et le sous-type IV oculaire dans 0,8% et 0,4%.³⁰⁷

1.4.3. Définition : Historique, Nosologie et Diagnostic

Alors que la plupart des maladies tendent à être définies par leur cause, la rosacée est encore aujourd'hui définie par ses signes et symptômes, car sa cause est considérée comme inconnue.³¹⁸ Comme ses signes et symptômes ne sont pas spécifiques, ils sont évalués par des comités d'experts qui, en fonction de leurs opinions, définissent et classifient la maladie dans différents consensus successifs, qui sont sources de controverses (Fig. 46).^{110,111,161,309,319} **La définition de la rosacée est donc encore aujourd'hui clinique, aspécifique, ambigüe, évolutive et controversée.**

1.4.3.1. Premières définitions au XIXème et XXème siècle

La rosacée a originellement été décrite en 1813, par R Willan, sous l'appellation d'**acné rosacée**, afin de souligner à la fois les similitudes avec l'acné vulgaire (papulopustules inflammatoires) et ses différences (érythème, absence de comédons), les deux maladies étant considérées à l'époque concerner le follicule pilosébacé. Au cours des années qui ont suivi, la discussion s'est concentrée sur la similitude avec l'acné vulgaire : l'acné vulgaire et l'acné rosacée étaient-elles une seule maladie ?³²⁰

Au début du XXe siècle, certains dermatologues anglais ont postulé que l'érythème était dû à une dilatation anormale des vaisseaux sanguins du visage et que la dermatose n'était pas liée aux glandes sébacées ; ils ont dès lors considéré que le terme "acné" de « acné rosacée » était inapproprié, et ont proposé d'appeler la maladie « **rosacée** », pour éviter la confusion avec l'acné vulgaire. Ils ont émis l'hypothèse que la rosacée progresse en **4 stades** : des bouffées de chaleur fréquentes aux vaisseaux sanguins dilatés en permanence (RET), suivis par le développement de papules et de pustules (RPP), et finalement l'évolution en phymas (Fig. 46).³²⁰

Cette notion de stades, incluant l'idée d'une progression plus ou moins linéaire d'un stade à l'autre, est contraire à la réalité clinique puisque de nombreux patients

peuvent parfaitement rester érythématotélangiectasiques toute leur vie, alors que d'autres ont d'emblée des papulopustules.³¹⁴

1.4.3.2. 2002 : Consensus de la National Rosacea Society

Un siècle plus tard, en 2002, la **National Rosacea Society** (NRS), au cours d'un premier consensus, **a défini** la rosacée sur base d'une distribution centro-faciale d'au moins **une de quatre caractéristiques diagnostiques** (flushs, érythème persistant, papules et pustules, télangiectasies) (Fig. 47).³²¹ Remarquons dès à présent que, selon cette définition, le patient qui présente uniquement des papulopustules centrofaciales est donc considéré avoir une rosacée.

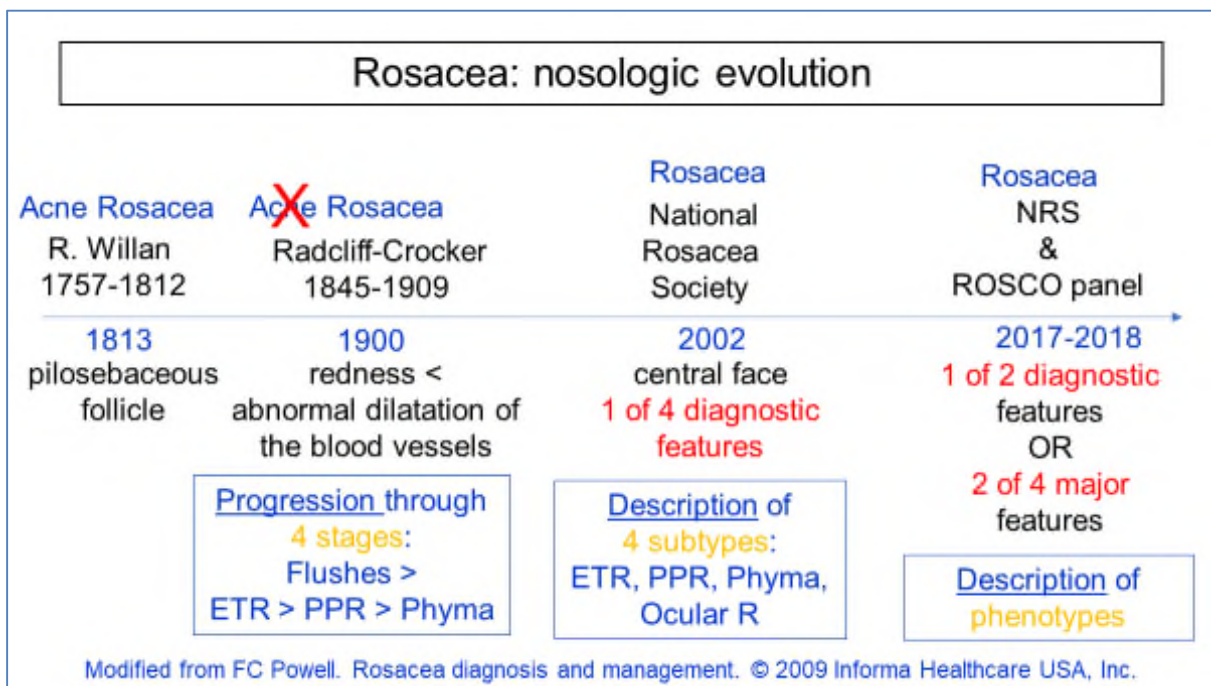


Fig. 46. Ligne de temps exposant les définitions successives de la rosacée.

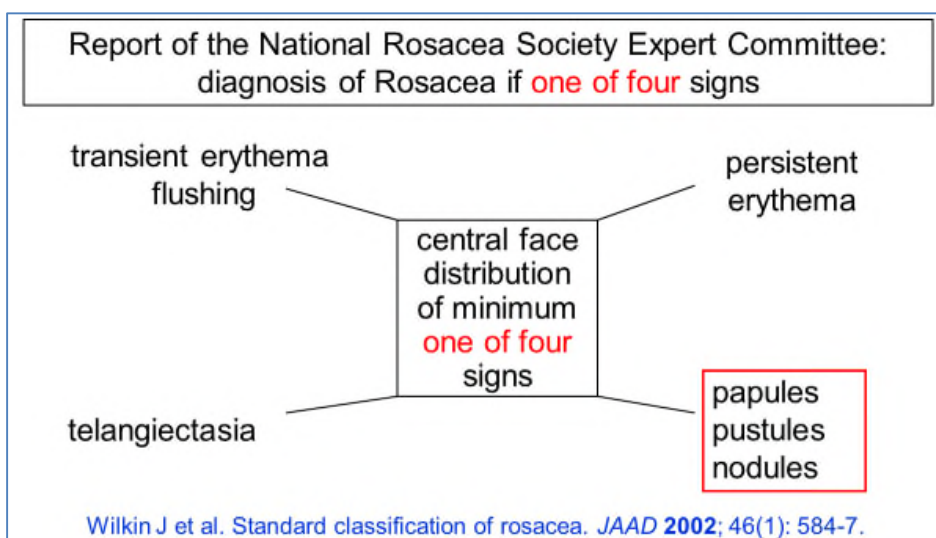
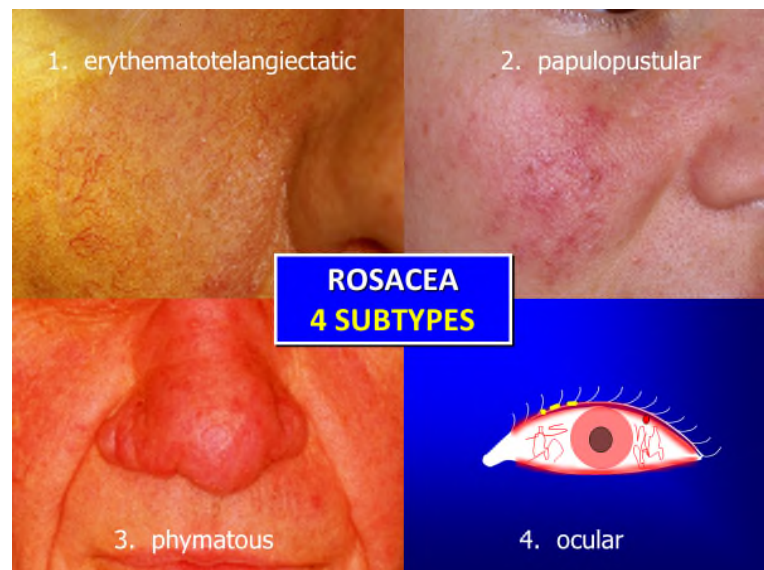


Fig. 47. Premier consensus de la NRS établissant **4 signes diagnostiques** de la rosacée (2002).

Le consensus a décrit **4 sous-types** (sous-type I : érythémato-télangiectasique, sous-type II : papulopustuleux, sous-type III : phymateux, sous-type IV : oculaire), mais sans impliquer une pathogenèse particulière ou une progression par différents stades (Figs. 46 et 48).³²¹

Fig. 48. Représentation photographique et schématique des **4 sous-types de rosacée** définis dans le premier consensus (2002).



La rosacée granulomateuse, constituée de papules jaunâtres à la vitropression, y est considérée comme une variante de rosacée.³²¹ C'est un diagnostic clinique car les granulomes histologiques sont en fait observés également dans beaucoup de RPP, et même dans certaines RET.^{225,322} L'ancien terme de « rosacée lupoïde » ne devrait plus être utilisé, afin d'éviter de confondre la rosacée avec « le **lupus miliaire disséminé de la face** » qui n'est pas une rosacée, ni une forme de tuberculose, mais est d'origine inconnue : sans symptômes vasculaires, petites papules jaunâtres atteignant la lèvre supérieure et les paupières (parfois sur le cou et les organes génitaux), d'histologie différente (granulomes tuberculoïdes avec caséification) et évoluant vers la guérison en 2 à 5 ans.³²³⁻³²⁵ Cependant, la confusion resurgit avec la publication récente d'un cas de lupus miliaire de la face (avec caséification), lié à la présence d'une prolifération en Demodex et guérissant par traitement acaricide per os (ornidazole).³²⁶

D'autres dermatoses, antérieurement apparentées à la rosacée, sont exclues de la rosacée dans ce consensus : la rosacée fulminans, la rosacée stéroïdienne et la dermatite péri-orale.³²¹

Le diagnostic des sous-types I et II, RET et RPP, nécessite à chaque fois la présence de deux caractéristiques : la RET nécessite des flushs et un érythème persistant, et la RPP nécessite des papulopustules et un érythème persistant.³²¹ Remarquons donc dès à présent que, selon cette définition, paradoxalement, le patient présentant **uniquement des papulopustules centrofaciales, s'il est bien considéré comme ayant une rosacée, n'est pas considéré comme ayant une RPP** car il n'a pas d'érythème persistant (Fig. 49).

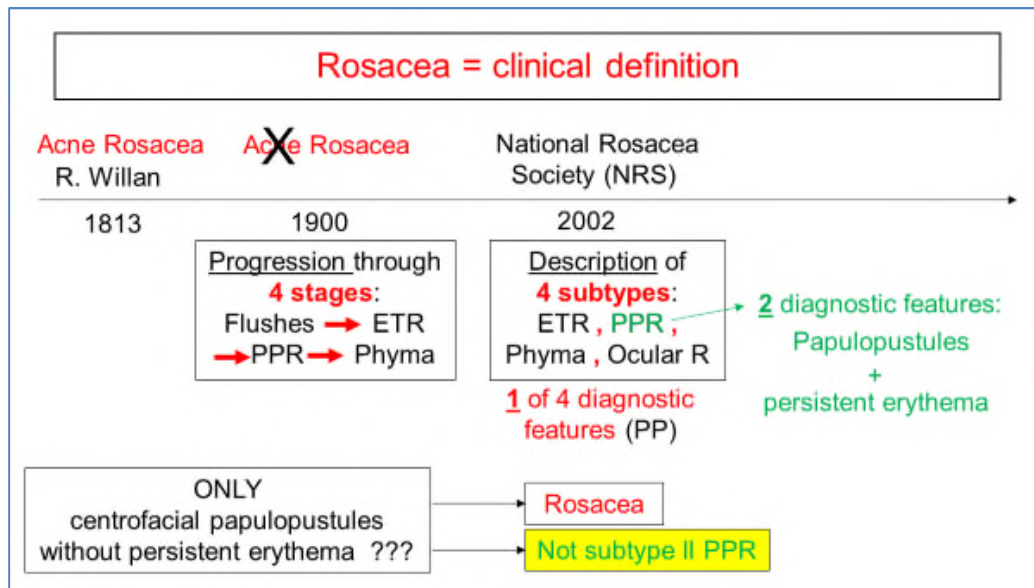


Fig. 49. Paradoxe résultant du premier consensus de 2002: le patient présentant uniquement des papulopustules centropaciales, s'il est bien considéré comme ayant une rosacée, n'est pas considéré comme ayant une RPP car il n'a pas d'érythème persistant.³²¹

La rosacée oculaire est fréquente et largement sous-diagnostiquée par les ophtalmologues, en dépit de son risque de cécité.³²⁷ Dans la pratique, les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont les sensations de corps étranger, de brûlure, d'yeux secs (confirmée par test de Schirmer),^{328,329} et les signes les plus fréquents sont les télangiectasies des bords des paupières,³²⁷ l'irrégularité du bord palpébral, le dysfonctionnement de la glande de Meibomius (avec stagnation du sébum dans la glande)^{327,329-332} et la blépharite.³²⁷ Mais d'autres atteintes oculaires peuvent aussi se rencontrer (Fig. 50) : douleur, larmoiement paradoxal, desquamation, croûtes au niveau des cils, orgelets sur les bords des paupières, chalazion et/ou kystes dans les paupières, œdème des paupières,^{333,334} conjonctivite, bouchons sur les orifices de la glande de Meibomius, fibrose conjonctivale, kératite, sclérite et épisclérite, opacités et érosions cornéennes pouvant aller jusqu'à la perforation de la cornée et la cécité.^{327,335-337}

Deux études, effectuées conjointement par des dermatologues et des ophtalmologues, montrent que l'atteinte oculaire est observée chez 33% (n=100)³³⁰ à **100%** (n= 39) des patients avec rosacée cutanée quand des examens et tests ophtalmologiques sont systématiquement effectués (test de Schirmer, temps de rupture du film lacrymal).³²⁹ **La sévérité de l'atteinte oculaire n'est pas corrélée avec l'intensité de l'atteinte cutanée.**^{329,330}

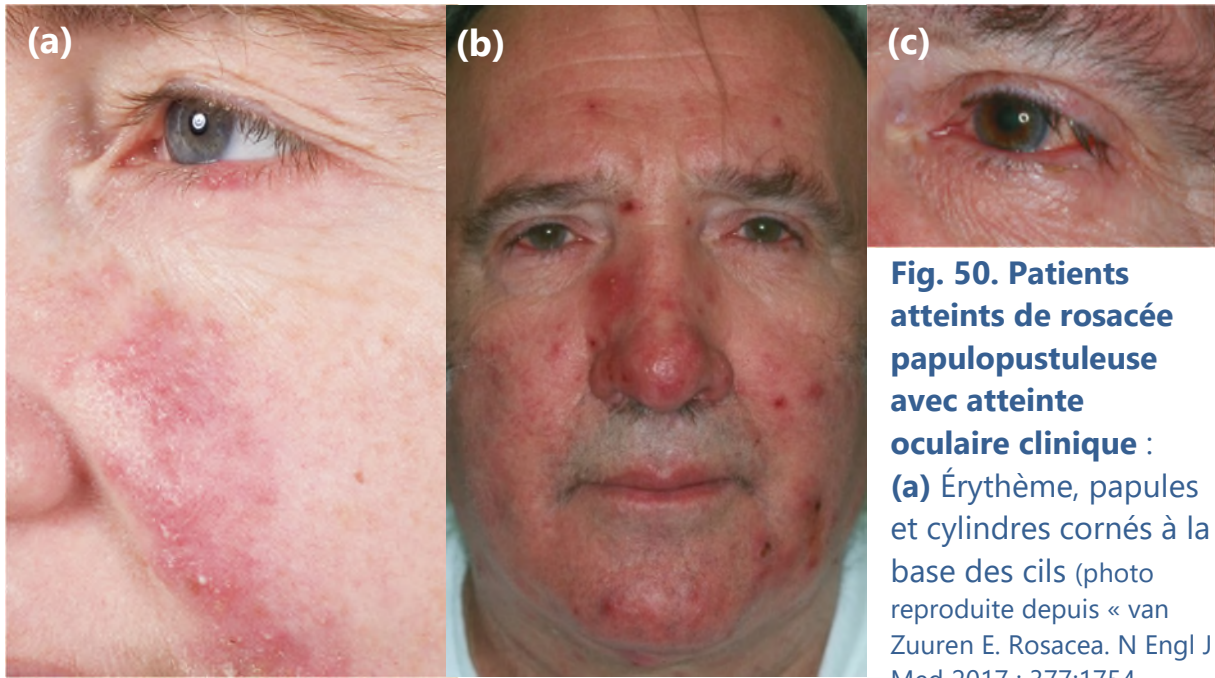


Fig. 50. Patients atteints de rosacée papulopustuleuse avec atteinte oculaire clinique :
(a) Érythème, papules et cylindres cornés à la base des cils (photo reproduite depuis « van Zuuren E. Rosacea. N Engl J Med 2017 ; 377:1754-

64) ». ³⁰⁸ **(b et c)** Un de nos patients avec rosacée papulopustuleuse, début de rhinophyma et conjonctivite avec larmoiement paradoxal (réflexe d'hypersécrétion des glandes lacrymales en cas de sécheresse oculaire excessive). Le frottis bactériologique n'a mis que du *Staphylocoque epidermidis* en évidence. Il présentait 49 Demodex/cm².

1.4.3.3. 2017 : Consensus ROSCO et mise à jour de la National Rosacea Society

La classification de 2002 a été critiquée parce que, dans la réalité, les patients présentent souvent plusieurs sous-types à la fois et peuvent également progresser parmi les sous-types. ³³⁸ Et, en corolaire, une caractéristique clinique peut appartenir à plusieurs sous-types (l'érythème persistant se retrouve à la fois dans la RET et la RPP), ce qui amène à des ambiguïtés dans l'interprétation et la comparaison des études. ³³⁹ De plus, dans la pratique, le clinicien ne raisonne pas selon la forme clinique : il pose le diagnostic, puis oriente le traitement selon les symptômes présents. ³¹⁴ Et donc, en 2017, un autre groupe d'experts international, appelé « **ROSCO** » (pour ROSacea COnsensus) a proposé de ne plus utiliser la classification avec les 4 sous-types, et de ne considérer que les symptômes (érythème facial, télangiectasies, papules, pustules...) qui, se réunissant chez un patient particulier, forment un **phénotype** (caractéristiques observables qui peuvent résulter d'influences génétiques et/ou environnementales) (Fig. 51). ^{340,341} Ce consensus, établi par des experts internationaux, a en outre inclus des variations sémiologiques en fonction de la couleur de la peau et de l'origine géographique des patients, qui n'avaient jusqu'alors jamais été prises en considération. ³¹⁴

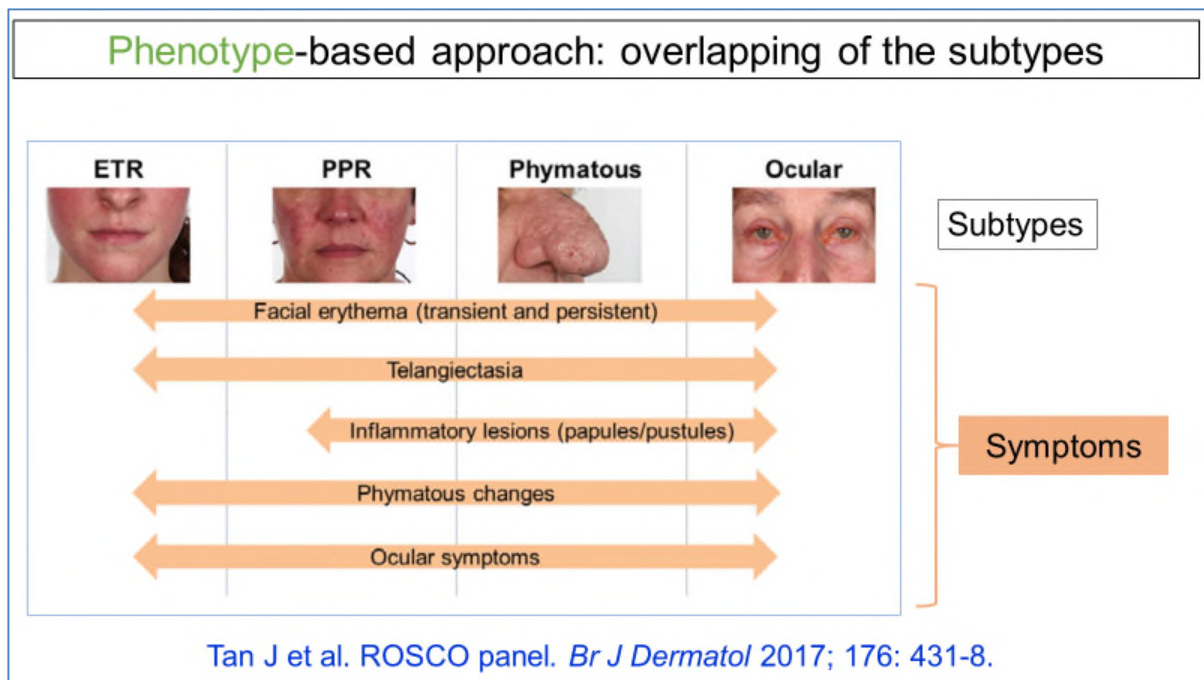


Fig. 51. Illustration du passage du concept de sous-types à celui de phénotypes.

Cette figure est reproduite et modifiée depuis « Tan J *et al.* Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea CONsensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; 176: 431–438 ». ³⁴⁰

Notons qu'il spécifie que différentes dermatoses ressemblant à la rosacée doivent être **exclus avant de pouvoir établir le diagnostic de rosacée** : eczéma, réactions médicamenteuses, **démodécies**, dermatite séborrhéique et lupus érythémateux. ³⁴⁰ Mais il ne spécifie nulle part dans l'article comment exclure le diagnostic de démodécie...Il n'est donc pas surprenant d'en voir de nos jours des auteurs qui, fort mal renseignés étant donné tout ce qui est déjà publié, ^{51,213,223,224,342–346} pensent pouvoir distinguer les démodécies des RPPs par dermatoscopie, entre autres par la présence de *Demodex* dans la démodécie et non dans la RPP. ²¹⁵

La **National Rosacea Society** (NRS), constituée cette fois d'experts américains exclusivement, a ensuite publié une mise à jour proposant un diagnostic de rosacée lorsque sont observés au minimum **un critère diagnostique** (parmi les deux proposés, et non plus quatre comme avant), ou, en leur absence, **deux caractéristiques majeures** (parmi les quatre proposées) (Fig. 52, Tableau 3). ¹⁵² Pour un diagnostic de rosacée oculaire, il faut un minimum de combinaisons de signes : c'est-à-dire des télangiectasies du bord libre et une injection conjonctivale, ou des anomalies cornéennes et une inflammation sclérale. ¹⁵² Les signes secondaires (aspect sec, sensations de brûlure ou de picotement, œdème) ne sont pas considérés intervenir dans le diagnostic de rosacée, que ce soit isolément ou en association. ³³⁹

Standard classification and pathophysiology of rosacea: the 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee	
<u>Diagnosis of Rosacea if (minimum):</u>	
1 of 2 diagnostic phenotypes:	<ul style="list-style-type: none"> • phymatous changes • persistent erythema
OR	
2 of 4 major phenotypes:	<ul style="list-style-type: none"> • Flushing • Telangiectasia • Papules/Pustules • Ocular manifestations : 4

Fig. 52. Définition actuelle de la rosacée (2018, 2019).¹⁵²

Les 4 signes majeurs oculaires sont :

1. Télangiectasies du bord libre des paupières,
2. Conjonctivite,
3. Infiltration de la cornée en forme de pics,
4. Sclérite/sclérokératite.

Tableau 3. Signes et symptômes pris en compte dans la nouvelle définition phénotypique de la rosacée (2018)

Diagnostic*	Major†	Secondary
Fixed centrofacial erythema in a characteristic pattern that may periodically intensify	Flushing	Burning sensation
Phymatous changes	Papules and pustules	Stinging sensation
	Telangiectasia	Edema
	Ocular manifestations	Dryness
	<ul style="list-style-type: none"> • Lid margin telangiectasia • Interpalpebral conjunctival injection • Spade-shaped infiltrates in the cornea • Scleritis and sclerokeratitis 	Ocular manifestations
		<ul style="list-style-type: none"> • “Honey crust” and collarette accumulation at the base of the lashes • Irregularity of the lid margin • Evaporative tear dysfunction (rapid tear breakup time)

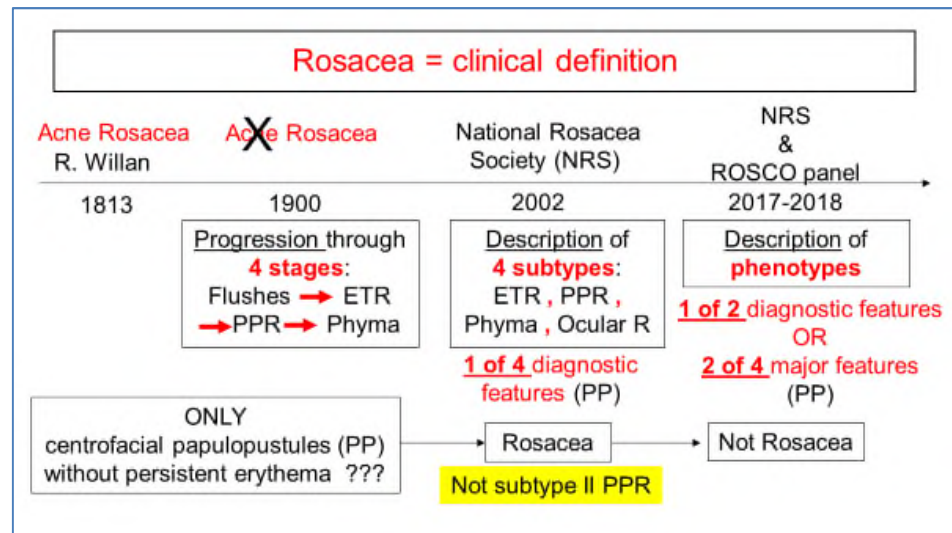
*These features by themselves are diagnostic of rosacea.

†Two or more major features may be considered diagnostic.

Tableau reproduit depuis « Gallo RL et al. Standard classification and pathophysiology of rosacea: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**: 148–155.¹⁵²

Selon ce consensus, seulement deux caractéristiques sont donc considérées comme diagnostiques : le phyma et l'érythème centrofacial persistant. Les flushs et les télangiectasies sont considérées comme des caractéristiques majeures, mais insuffisantes pour établir isolément le diagnostic de rosacée, en raison de leur existence dans d'autres pathologies, par exemple les télangiectasies présentes dans l'héliodermie. Celles-ci sont donc considérées comme différentes de celles de la RET, bien qu'il soit impossible de les différencier sur le plan clinique.³⁰⁹ Et les papules et les pustules deviennent insuffisantes pour poser le diagnostic de rosacée si elles sont isolées. Donc, **les patients qui présentent uniquement des papulopustules centrofaciales ne sont plus considérés comme ayant une rosacée** (Fig. 53). Chen et Plewig considèrent qu'ils ont une démodécie pseudo-rosacée.¹⁰⁷

Fig. 53. Ligne de temps exposant les différents diagnostics attribués aux patients présentant uniquement des papulopustules centrofaciales en fonction de l'évolution de la définition de la rosacée.



Le changement d'approche demandé semble surtout avoir comme but d'améliorer les études cliniques et épidémiologiques, afin de les rendre plus proches de la pratique, et d'homogénéiser les groupes de patients comparés par les méta-analyses (afin que les patients dénommés d'une certaine façon dans 2 études différentes présentent bien les mêmes caractéristiques cliniques). Mais ces changements successifs ne facilitent pas le travail du dermatologue, qui, en pratique, établit déjà le traitement en fonction des symptômes, ne suit pas l'évolution de ces définitions et pose quotidiennement un diagnostic clinique global plus « instinctif ». En tout cas, la transition vers l'approche phénotypique nécessitera un long travail promotionnel avant de pouvoir l'imposer à grande échelle.³⁴¹

Notre travail personnel ayant été entamé bien avant ce récent changement de définition, nous continuerons à utiliser les termes du consensus de 2002 dans ce travail (avec les sous-types) tout en tenant compte de ces changements dans nos publications.

Notons que ce consensus¹⁵² a aussi été envoyé, avant parution, pour avis, à d'autres experts, qui sont remerciés en fin d'article; mais leur avis n'a pas été nécessairement pris en compte (expérience personnelle), ce qui peut prêter à confusion, car les remercier peut faire croire erronément qu'ils ont approuvé le consensus...

1.4.3.4. La rosacée fulminans

Exclue du spectre de la rosacée dans le consensus de 2002,³²¹ la rosacée fulminans (anciennement appelée « pyodermie faciale ») est une forme rare et intense de rosacée, à début abrupt, atteignant presque exclusivement la femme adulte entre 15 et 46 ans, avec peau séborrhéique.³⁴⁷⁻³⁵¹ Des papules, pustules et nodules purulents coalescents apparaissent subitement sur le visage, sans altérer l'état général.^{347,349}

1.4.4. Histologie-Immunohistochimie

Les signes histopathologiques de la rosacée ne sont pas spécifiques, mais leur convergence permet néanmoins de poser le diagnostic dans la plupart des cas si le dermatopathologiste est expérimenté.²²⁶ Par contre, **l'histologie ne permet pas de différencier la rosacée de la démodécie**,²²⁶ et en particulier, la rosacée granulomateuse de la démodécie granulomateuse.³⁵²

A l'instar de l'aspect clinique, l'histologie montre une **combinaison de signes vasculaires et inflammatoires**, et ceci même dans les formes vasculaires pures cliniquement, c'est-à-dire **dès le début de la maladie** (Fig. 54, Tableau 4) :^{226,227}

- **L'infiltrat** est présent dans tous les sous-types de rosacée, y compris la RET, et est composé essentiellement de lymphocytes T helper (95%),^{344,353} type **Th1 et Th17**,^{354,355} (pas d'augmentation des Th17 dans une autre étude)²⁰² et de 5% de lymphocytes T suppresseurs (appelés maintenant T régulateurs),³⁵³ mais aussi de mastocytes, macrophages et plasmocytes.²²⁵ L'immunohistochimie a montré un rapport CD4⁺ helper/CD8⁺ cytotoxique de 2.8, avec **31% de CD4⁺CD25⁺régulateurs** et **6% de cellules dendritiques CD123⁺**.³⁵⁶ Les cellules dendritiques, ont été parfois décrites uniquement chez les patients « avec Demodex ». ³⁴⁴
- Les **mastocytes** seraient corrélés à la durée de la maladie²²⁵ et, avec les polymorphonucléaires neutrophiles,³⁵⁴ culminent dans le sous-type RPP³⁵⁷ (particulièrement autour des glandes sébacées pour les mastocytes).³⁵⁸
- Par ailleurs, une étude de biologie moléculaire a montré que **les fibroblastes** étaient eux aussi augmentés dès le début de la maladie, même quand la fibrose n'est pas visible cliniquement,³⁵⁷ de même que **l'élastose solaire** ;²²⁸
- Aroni *et al* ont observé que, chez les patients atteints de rosacée, la peau cliniquement saine présentait aussi des altérations histologiques (mais de moindre importance) telles que l'élastose solaire, la vasodilatation, et surtout un léger infiltrat lymphocytaire périvasculaire et périfolliculaire, témoignant du fait que cet infiltrat fait partie du début de la maladie.²²⁵
- L'infiltrat a été déclaré situé majoritairement autour des vaisseaux^{203,225} mais il est en fait également localisé autour des follicules,^{225,226,359} envahissant sa paroi, et souvent associé à la présence de Demodex (Fig. 55).^{232,344,353}
- Les **granulomes** se retrouvent aussi dans tous les sous-types de rosacée : non seulement dans la rosacée granulomateuse clinique, mais aussi dans la RPP,^{206,225,322} et même dans la RET.²²⁵ La rosacée granulomateuse devrait donc faire partie intégrante de la rosacée.³²²
- Des **Demodex sont habituellement présents dans tous les sous-types de rosacée** à la biopsie : dans 63% des RETs, 85% à quasi 100% des RPPs et dans 100% des formes hypertrophiques.^{226,227} De plus, des Demodex sont retrouvés à l'intérieur

même des granulomes³⁰⁴ chez 3%,¹⁵⁷ 19%^{12,225} à 66%³⁵² des patients atteints de rosacée granulomateuses (Fig. 55).

- Les études immunohistochimiques ont montré que les vaisseaux sanguins et lymphatiques³⁶⁰ étaient **dilatés** dès le début de la maladie, tant dans la RET que dans la RPP, et ce, même en absence d'œdème ;³⁶⁰ tandis que l'**angiogenèse** et la **lymphangiogenèse** n'interviendraient que dans le rhinophyma.^{357,361} L'œdème des paupières, parfois observé, est associé à une fibrose périfolliculaire qui pourrait être responsable d'une fibrose des vaisseaux lymphatiques, et finalement de l'obstruction permanente de ceux-ci.³³⁴

- Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), synthétisé par les kératinocytes sous l'induction des UV-B, est augmenté dans le derme en cas de rosacée, et ce, de façon similaire dans la RET et la RPP.³⁶⁰ Dans la rosacée, le **VEGF** est exprimé dans l'épiderme (comme dans la peau normale), mais aussi par les **cellules infiltrantes**, et les **récepteurs du VEGF** (VEGF-R1 et R2) sont exprimés dans l'épiderme (comme dans la peau normale), mais aussi par l'endothélium vasculaire (dans la peau normale, le VEGF-R2 n'est pas exprimé dans l'endothélium).³⁶²

Par rapport à la peau saine riche en glandes sébacées, où règne à la base un climat immunotolérant, la peau de RPP montre un déferlement de cellules inflammatoires : macrophages, mastocytes, neutrophiles, lymphocytes T CD4⁺, cellules dendritiques (qui sont non seulement plus nombreuses mais aussi activées/matures). Les éosinophiles, par contre, ne sont observés ni dans la RPP (ou occasionnellement)²²⁶ ni dans la peau saine riche en glandes sébacées.³⁵⁵

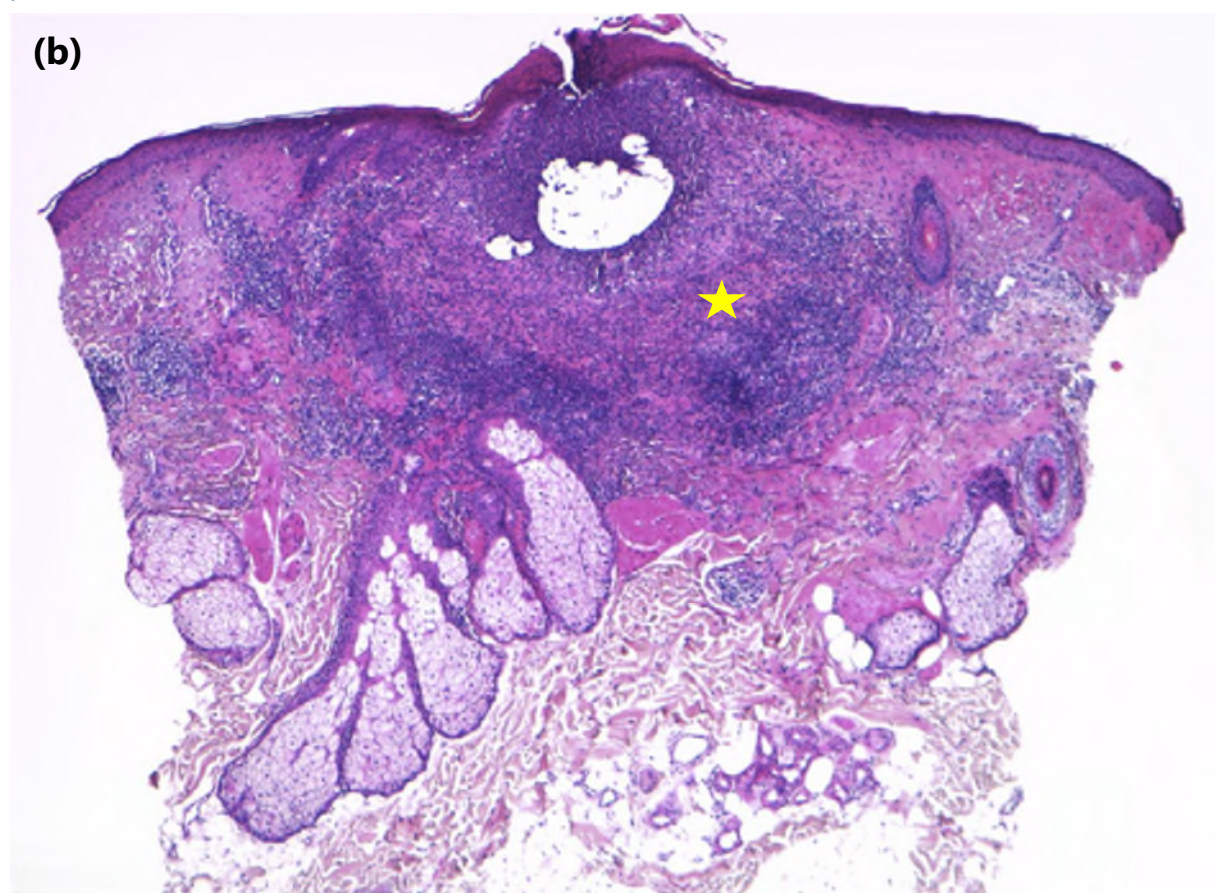
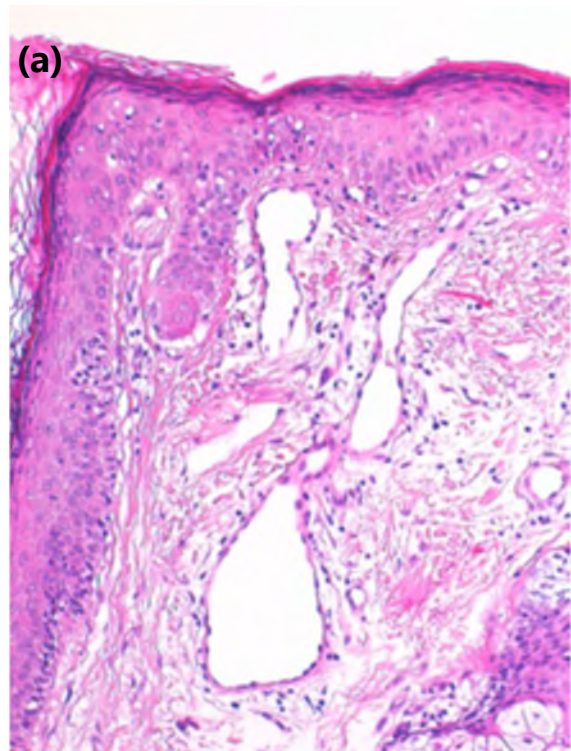
Par rapport au lupus érythémateux, sont associés à la rosacée : l'hyperplasie sébacée, la présence de Demodex et des proportions différentes des différents types de lymphocytes (dont beaucoup plus de **lymphocytes T régulateurs** (31% vs 13%)).³⁵⁶

Dans la **rosacée fulminans**, au début il y a une infiltration massive de neutrophiles et d'éosinophiles, qui est suivie ensuite par un infiltrat lymphohistocytaire périvasculaire et périfolliculaire avec cellules géantes, qui détruit les follicules pilosébacés.³⁴⁷ Une infestation massive de Demodex a été rapportée.³⁴⁹

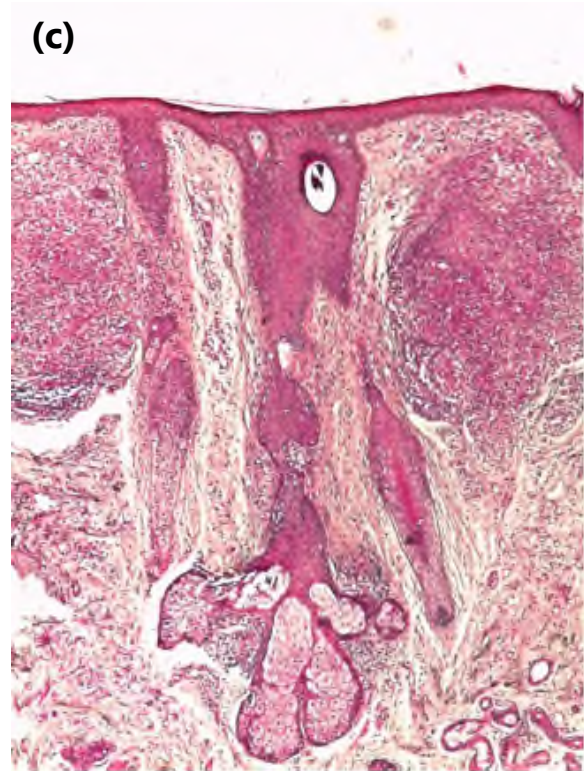
Fig. 54. Caractéristiques histologiques des différents sous-types de rosacée :

(a) RET : nombreux vaisseaux superficiels de grande taille, de formes anfractueuses, avec des cellules endothéliales turgescents, œdème du derme superficiel, spongiose et exocytose lymphocytaire au sein de l'épiderme. Sont aussi observés des infiltrats périvasculaires, interstitiels et également périfolliculaires à hauteur de l'infundibulum, en général face à un Demodex, avec spongiose et exocytose de l'épiderme adjacent.²²⁶

(b) RPP : l'inflammation est beaucoup plus importante que dans les autres sous-types de rosacée et se retrouve généralement à la fois en surface et en profondeur, jusque parfois dans l'hypoderme.²²⁵ L'infiltrat est généralement périfolliculaire, mais de petits abcès extra-folliculaires peuvent également être observés (étoile jaune). Les collections de neutrophiles sont localisées autour de l'infundibulum, et sont souvent corrélées à la présence de Demodex.²²⁶

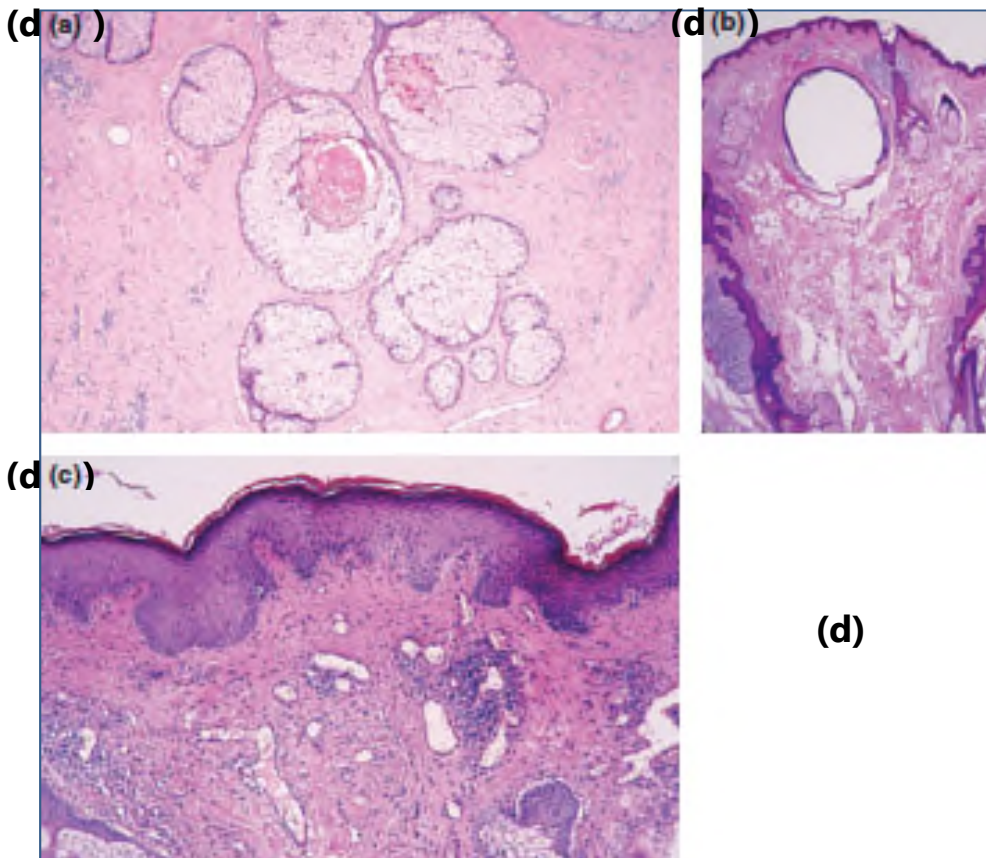


(c) Dans la **rosacée granulomateuse**, de larges granulomes à corps étranger, sans caséification, sont observés dans le derme superficiel et moyen ; ils détruisent les follicules pileux dans lesquels se trouvent des Demodex.



(d) Dans la **forme phymateuse**, les glandes sébacées sont extrêmement développées :

(d (a)), les infundibulums sont dilatés, remplis de kératine lamellaire, de débris éosinophiles et de micro-organismes (formant des petits kystes **(d (b))**) et entourés d'un infiltrat relativement moins important que dans la RPP, lymphocytaire et neutrophilique, avec granulomes ; il y a de la fibrose dermique, les vaisseaux sont dilatés **(d (c))** et les Demodex sont habituels.²²⁶



Les photographies (a), (b) et (d) sont reproduites depuis « Cribier B. Rosacea under the microscope : characteristic histological findings. J EADV 2013, 27, 1336–1343 ».²²⁶

La photographie (c) est reproduite depuis « Kelati and Mernissi. Granulomatous rosacea: a case report. Journal of Medical Case Reports 2017 ; 11: 230 ».²¹⁶

Pour toutes les photographies de la Fig. 54 : coloration hématoxyline éosine.

(a) Histological features of Erythemato-telangiectatic rosacea (ETR) subtype of rosacea

- Enlarged, dilated capillaries and venules in upper dermis
 - Frequently have bizarre shapes
- Presence of *Demodex* mites
- Oedema in upper dermis
- Lymphocytic inflammation of varying degrees
- Spongiosis (common, but not specific to rosacea)
- No changes in dermo-epidermal junction

(b) Histological features of papulo-pustular rosacea (PPR) subtype of rosacea

- Conspicuous superficial and deep inflammation
 - Mixed infiltrate
 - Eosinophils plus plasma cells
- Presence of *Demodex* mites
- Spongiosis, exocytosis and acute folliculitis are common
- Solar elastosis
- Absence of retentional elements such as dermal infundibular cysts

(c) Histological features of granulomatous rosacea

- Large granulomas in the superficial and mid dermis
 - Large central empty space
 - Can also be small palisaded, elastolytic or diffuse
- *Demodex* mites and sometimes remnants of mites
- No caseation

Tableau 4. Caractéristiques histologiques de différents sous-types de rosacée :

(a) RET,
(b) RPP
et (c) rosacée
granulomateuse.

Tableaux reproduits depuis
« Cribier B. Rosacea under the
microscope : characteristic
histological findings. JEADV 2013,
27, 1336–1343 ». ²²⁶

Au sein des granulomes, un **espace vide, de rétraction**, s'observe souvent : il est entouré par une couche de polymorphonucléaires neutrophiles et de nombreux histiocytes et lymphocytes. Il a été supposé par le Professeur Grosshans que ces espaces vides contenaient initialement des *Demodex* qui auraient été perdus au cours des manipulations techniques préparant les lames de biopsie, puisque des *Demodex* se voient parfois au centre de ces espaces de rétraction, à l'instar de ce qui est visualisé dans la Fig. 55 (b) et sur la Fig 4 de notre article de 1986 (§ 3.1).⁷⁵ En 1972, il pensait que le *Demodex* pouvait quitter l'infundibulum pileaire, pénétrer dans le derme et provoquer (ensuite) une réaction granulomateuse.¹² En 1974, il semble plutôt penser que le parasite pénètre accidentellement dans le derme suite à l'inflammation et la destruction du follicule par l'infiltrat.⁷⁹ En 1979, Ecker et Winkelmann publient une photo histologique d'un *Demodex* intradermique intact, à côté de follicules pilosébacés intacts, non rompus,¹⁵⁷ ce qui fait donc penser que **le *Demodex* peut sortir activement du follicule**, ce que nous confirmerons en 1986 (§ 3.1).⁷⁵

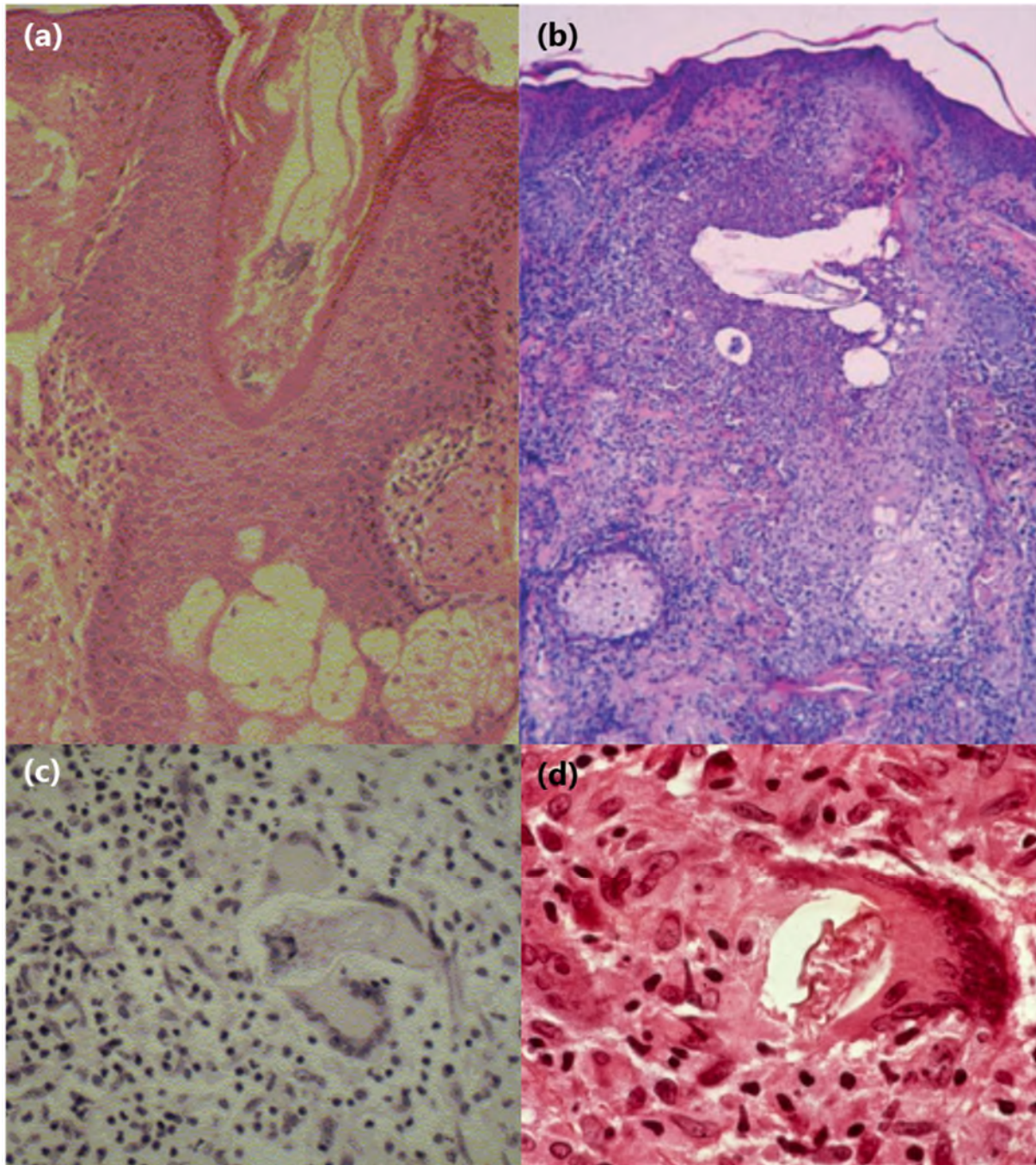


Fig. 55. Rosacée : relation de différents infiltrats avec le Demodex.

(a) : Infiltrat lymphohistiocytaire périfolliculaire situé à hauteur du gnathosome du Demodex au sein du follicule ;

(b) : Pustule de RPP avec, au sein de l'infiltrat neutrophile, quatre espaces de rétraction, blancs, dont deux contiennent des restes de Demodex (coloration hématoxyline éosine). Cette photo est reproduite depuis « Cribier B. Rosacea under the microscope : characteristic histological findings. JEADV 2013 ; 27 : 1336–1343 ».²²⁶

(c & d) : Respectivement trois (c) et une (d) cellules géantes tentent de phagocytter des Demodex ayant pénétré dans le derme, dans des biopsies de rosacée granulomateuse. Ces 2 dernières photos sont reproduites depuis « Grosshans EM *et al.* *Demodex folliculorum* und die Histogenese der granulomatösen Rosacea. Hautarzt 1974 ; 25 : 166-77 ».⁷⁹

1.4.5. Evaluation - Gradation

Les études cliniques évaluent l'intensité de la rosacée de différentes façons. Les **symptômes cliniques** peuvent être évalués **de façon globale** (Investigator's Global Assessment [IGA]) suivant des systèmes de gradation à 5 niveaux : aucun symptôme, presque aucun symptôme, atteinte légère, modérée et sévère (Tableau 5, Fig. 56).³⁶³ Certains proposent une gradation plus détaillée avec 5 niveaux et 2 sous-niveaux.³⁶⁴

Chacun des symptômes peut aussi être évalué **séparément**,³⁶⁵ suivant les recommandations actuelles de la NRS, sur une échelle à cinq niveaux : absent/guéri, minime/presque guéri, léger, modéré et sévère.³¹⁴

La **qualité de vie** des patients est évaluée par de multiples questionnaires détaillés, que ce soit un questionnaire général de santé (EuroQol-5 Dimension (EQ-5D)),³⁶⁶ spécifique à la dermatologie (le « Dermatology Life Quality Index » (DLQI))^{363,366-369} ou à la rosacée en particulier (Impact Assessment for Rosacea Facial Redness (IA-RFR)³⁶⁹ ou le « Rosacea-specific quality-of-life » (Rosa-QOL)^{363,366-368} ou le Facial Redness Questionnaire (FRQ)³⁶⁸), etc.

Tableau 5. Description clinique des 5 niveaux de scores de l'évaluation globale par l'investigateur (IGA) (tableau reproduit depuis « Webster *et al.* Defining Treatment Success in Rosacea as 'Clear' May Provide Multiple Patient Benefits: Results of a Pooled Analysis. *J Dermatolog Treat.* 2017; 28 (5): 469-474 »).³⁶³

Grade	Score	Clinical description
Clear	0	No inflammatory lesions present, no erythema
Almost clear	1	Very few small papules/pustules, very mild erythema present
Mild	2	Few small papules/pustules, mild erythema
Moderate	3	Several small or large papules/pustules, moderate erythema
Severe	4	Numerous small and/or large papules/pustules, severe erythema



IGA score: 3 2 1 0

Fig. 56. Système d'évaluation globale par l'investigateur (IGA), à 5 grades, proposé pour évaluer l'intensité des symptômes de la rosacée. Ici, la patiente est photographiée au cours de son traitement par ivermectine 1% en topique appliqué 1x/j (pas de photo pour le grade 4). Figure reproduite depuis « Webster *et al.* Defining Treatment Success in Rosacea as 'Clear' May Provide Multiple Patient Benefits: Results of a Pooled Analysis. *J Dermatolog Treat.* 2017; 28 (5): 469-474 ».³⁶³

- La sévérité de la **rosacée oculaire** est qualifiée, suivant quatre niveaux, de :³¹⁴
- mineure (blépharite mineure avec télangiectasies du bord libre des paupières),
 - mineure à modérée (blépharo-conjonctivite),
 - modérée à sévère (blépharo-kérato-conjonctivite),
 - sévère (sclérokératite, uvéite antérieure).

Cependant, l'évaluation clinique reste toujours un peu subjective et ne permet d'évaluer que ce qui se passe à la surface de la peau. Dans un souci de standardisation et d'objectivité, de **multiples instruments de mesure** non invasifs sont dès lors utilisés pour évaluer différents paramètres dans les études cliniques ou la recherche : l'érythème, la forme des vaisseaux, l'hydratation de la couche cornée, la perte d'eau transépidermique, le pH, la température cutanée, le flux sanguin et **la densité en Demodex**.²¹⁴ Cette dernière est évaluée par différentes techniques, de pertinences variables (§ 1.3.3. et 3.2.).

1.4.6. Diagnostic différentiel³⁰⁹

Si le diagnostic clinique de rosacée est fréquemment posé, il n'est **pas toujours facile** et n'est donc pas toujours posé de façon adéquate.

De nombreuses maladies peuvent ressembler à la rosacée : essentiellement l'acné vulgaire et la dermatite séborrhéique,³⁷⁰ d'autant plus que la rosacée peut également coexister avec elles,^{126,225,309,317,321,371-373} mais aussi les folliculites bactériennes, l'ulérythème ophryogène et, dans une moindre mesure, l'eczéma, la dermatite irritative, la dermatite de contact, l'érysipèle, les piqûres d'insectes, et, plus rarement, l'infiltrat lymphocytaire de Jessner et Kanof, le lymphocytome borélien, la lèpre,¹⁴³ la dermatophytie du visage,³⁷⁴ le lupus miliaire de la face, le lupus érythémateux aigu, le lupus érythémateux chronique, la dermatomyosite, les pustulodermies toxiques de la face (sur mercure ou irritant), la sarcoïdose (lupus pernio ou à petits nodules), granulomatoses des déficit immunitaires congénitaux, la syphilis secondaire, des infections rares (*Mycobacterium avium*,³⁷⁵ histoplasmoses surtout en cas d'immunodépression liée au SIDA,³⁷⁶...), une photosensibilisation médicamenteuse, le syndrome carcinoïde, le syndrome de la veine cave supérieure, la mastocytose, l'érythème pudique, les bouffées de chaleur de la ménopause, la rubéose de la polyglobulie, les télangiectasies de la sclérodermie, de la maladie d'Osler-Rendu, etc. Certaines tumeurs peuvent ressembler au rhinophyma : carcinomes basocellulaires ou épidermoïdes, le lymphome cutané, l'angiosarcome,³⁷⁷ etc.

La rosacée fulminans est à différencier de l'acné fulminans qui atteint les hommes adolescents, s'accompagne de comédons et de symptômes inflammatoires généraux.³⁴⁷

Certaines dermatoses ont une place nosologique mal établie par rapport à la rosacée : le granulome facial idiopathique aseptique (pyodermite froide du visage) (qui est considéré comme une rosacée de l'enfant,³⁷⁸ et pourrait peut-être correspondre au nodule inflammatoire isolé démodécique (§ 1.3.1.7.)), la rosacée fulminans/conglobata, la maladie de Morbihan, la rosacée stéroïdienne, la dermatite périorale, la dermatite granulomateuse périorale juvénile, les dermatoses pseudo-rosacée liées à l'utilisation de certains médicaments (inhibiteurs du récepteur du facteur de croissance épidermique²⁶²).

Selon les autorités dermatologiques, **les démodécies** seraient aussi à différencier de la rosacée (§ 1.4.3.3.)³⁴⁰ ce sujet est au cœur de notre thèse (§ 4.2.5., 5.2.).

1.4.7. Facteurs favorisants

Bien que la rosacée atteigne les patients de tout âge, des deux sexes et de tout phototype,^{307,316} elle est cependant plus fréquente après 30 ans et chez les patients à peau claire (§ 1.4.2.). Une étude comparant 172 patients atteints de rosacée avec 145 contrôles sains a montré que la rosacée était **avant tout associée à une prédisposition familiale et aux phototypes clairs**, tandis qu'aucune différence n'y a été constatée pour le sexe, la consommation d'alcool, la consommation de caféine, l'*Helicobacter pylori*, et l'environnement professionnel ou le niveau de scolarité.³⁷⁹

Les variations importantes de **température ambiante et les facteurs alimentaires** (ingestion de liquides chauds, d'aliments épicés, de repas copieux, d'alcool, etc) sont souvent cités comme pouvant exacerber la rosacée, mais si ces éléments peuvent causer une augmentation transitoire de l'érythème facial et exacerber une tendance aux bouffées vasomotrices (principalement dans la RET), rien n'indique qu'ils aggravent la RPP, les phymas, ou les rosacées oculaires.³⁰⁹

Cependant, certains de ces facteurs ont été mis en évidence en ce qui concerne le **rhinophyma** : prédisposition **génétique** (sexe mâle et antécédent familial de rhinophyma), **diabète**, et **consommation d'alcool** (le risque et la gravité du rhinophyma augmentant avec la quantité d'alcool consommée).³⁸⁰ Cette étude corrobore ainsi la réputation des **hommes** de développer des rosacées plus sévères et d'avoir 20 fois plus de risque de développer un rhinophyma que les femmes.³⁰⁹

Une étude sur jumeaux a permis de confirmer **l'influence respective du terrain génétique (46%) et environnemental (54%) dans la rosacée**.³⁸¹ Les facteurs environnementaux mis en évidence sont : l'âge, l'exposition aux UV, l'index de masse corporelle, les cancers cutanés, les maladies cardio-vasculaires, et dans une moindre mesure, le tabagisme et l'alcool.³⁸¹ Des études à l'échelle du génome proposent des **loci de risque génétique** pour la rosacée, qui serait par ce biais

associée à d'autres risques³⁸²⁻³⁸⁴ (§ 1.4.8.6.). Une étude met même en évidence un allèle favorisant plutôt la RPP que la RET.³⁸⁴ Ainsi, **la survenue de la rosacée dans l'enfance** devrait faire rechercher une anomalie génétique favorisant un dysfonctionnement du système immunitaire, telle que les mutations du gène STAT1 conduisant à un déficit de la fonction des Th17,^{265,385} et associées à différentes maladies et à un début précoce de la rosacée.³⁸⁵

1.4.8. Physiopathologie

Au départ, différentes hypothèses ont été émises pour expliquer d'une part les symptômes vasculaires et d'autre part les symptômes inflammatoires de la rosacée, le lien entre les deux n'étant pas évident a priori, de même qu'avec le rhinophyma. Bien que la cause de la rosacée soit encore considérée comme inconnue,¹⁵² la plupart des experts l'attribuent aujourd'hui à un **désordre de l'immunité innée et adaptative, combiné à une inflammation neurogène**. La recherche fondamentale est dès lors orientée vers des études immuno-histo-chimiques qui décortiquent les phénomènes inflammatoires et neurovasculaires de la rosacée.³¹⁸

1.4.8.1. Physiopathologie des symptômes vasculaires

1.4.8.1. A. Stase veineuse passive

Les flushs correspondent à une **stase veineuse**. Ils ne proviennent pas d'un apport artériel accru, mais résultent d'un déficit dans le drainage veineux : d'abord transitoire, celui-ci s'installe progressivement en une dilatation permanente des capillaires et veinules dermiques, avec troubles de la perméabilité et œdème dermique.^{56,226,227,314} Une première hypothèse a attribué cette vasodilatation des veinules à un **phénomène passif** secondaire à la dégradation du collagène dermique, induit par les UVs,^{37,56,155,203,310,386,387} le développement et la sévérité de la RET étant corrélées avec le degré d'exposition au soleil.³⁸⁸

1.4.8.1. B. Dysfonctionnement neurovasculaire d'origine centrale

Ensuite, les symptômes vasculaires (flushs, érythème permanent et télangiectasies) ont été soupçonnés résulter d'un **dysfonctionnement neurovasculaire d'origine centrale**.³⁸⁹ En effet, les vaisseaux de la face communiquent avec le cerveau par l'intermédiaire d'une petite veine : la veine angulaire centrofaciale. En cas de température normale, le sang y circule du cerveau vers la face, puis vers le bas, dans les veines jugulaires et, de là, dans l'oreillette droite. En cas d'hyperthermie, chez le sujet sain, le courant s'inverse : le sang veineux, refroidi au niveau de la face, se dirige vers le cerveau en passant par le sinus caverneux où il refroidit le sang carotidien par échange thermique (Fig. 57).³⁸⁹ En 1988, Brinnel *et al* ont montré que ce mécanisme de défense contre l'hyperthermie cérébrale était absent chez les patients atteints de rosacée. Chez eux, cette inversion de courant ne se fait pas (Fig. 58) : que ce soit en

normothermie ou en hyperthermie, le sang circule, chez eux, toujours du cerveau vers la face. Par conséquent, il a été suggéré que le flush serait une anomalie fonctionnelle du système veineux de la face, dû probablement à un déficit de contrôle par le système nerveux central.³⁸⁹ Actuellement, cependant, cette hypothèse semble avoir été oubliée : plus personne ne la mentionne.

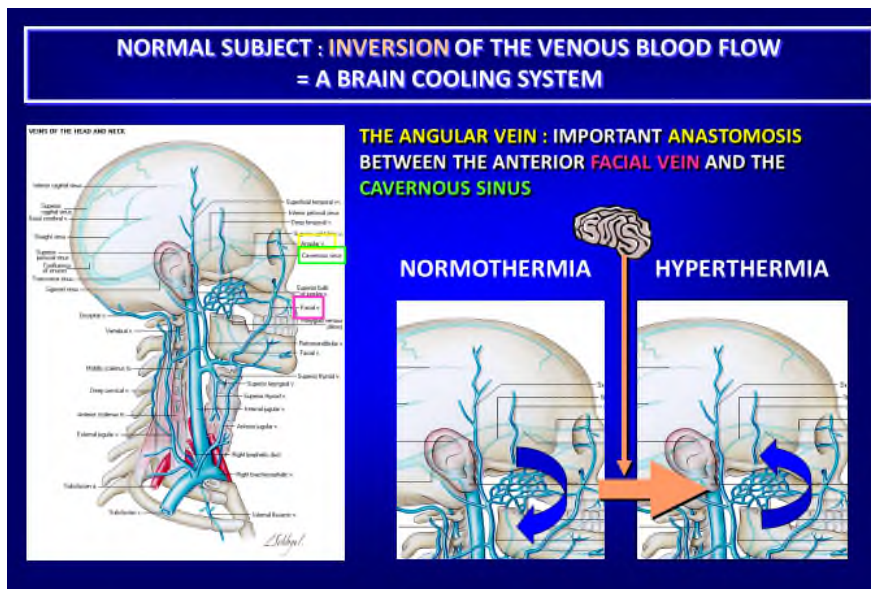


Fig. 57. Système de régulation du flux sanguin entre la face et le cerveau chez un individu sain : représentation schématique. L'inversion de courant sanguin en cas d'hyperthermie est un système de refroidissement, de protection, du cerveau. Ce système serait sous le contrôle du SNC dans le but de maintenir l'homéostasie.

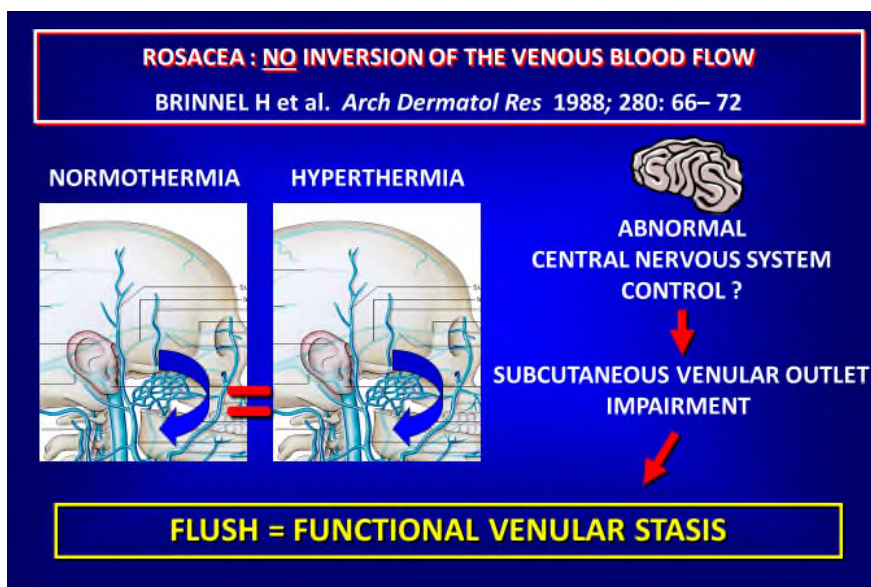


Fig. 58. Représentation schématique de l'absence d'inversion de courant sanguin entre la face et le cerveau, en cas d'hyperthermie, chez les individus atteints de rosacée.

1.4.8.1. C. Inflammation neurogène locale

Récemment, une **inflammation neurogène locale** a été mise en évidence dans la rosacée, grâce à des études immunohistochimiques : (1) L'expression des **gènes** impliqués dans l'inflammation neurogène est augmentée dans la rosacée;³⁵⁷ (2) **la substance P**, médiatrice de l'inflammation neurogène, est augmentée autour des vaisseaux dermiques superficiels des papules de rosacée³⁹⁰ et dans le sérum des

patients atteints de rosacée,³⁹¹ et elle stimule fortement les mastocytes à synthétiser du VEGF;³⁹² (3) les **mastocytes**,³⁵⁷ témoins importants de l'inflammation neurogène, sont particulièrement abondants dans l'infiltrat de la RPP (§ 1.4.4.), en lien étroit avec les terminaisons nerveuses délivrant la substance P, et les vaisseaux;³⁹³ (4) les **canaux ioniques récepteurs des neurones sensoriels** sont hyperactifs et présents en densité plus grande en cas de rosacée.³⁶¹

L'inflammation neurogène est un mécanisme « réflexe » par lequel les nerfs sensoriels participent à l'inflammation (§ 7.3.3.)³⁹⁴ la stimulation des fibres nerveuses génère une inflammation qui serait responsable de la vasodilatation des capillaires veinulaires adjacents³⁹⁵ et également de la fibrose du derme observée dans les rosacées chroniques.^{357,396} Cette étroite **communication neurovasculaire** expliquerait la vasodilatation rapide observée dans les flushs, les vaisseaux dilatés pouvant encore s'hyper-dilater sous l'influence des nerfs. Cette inflammation neurogène serait **induite par les UVs et stimulée par les facteurs stimulants les flushs** (boissons chaudes ou alcoolisées, repas épicés, les stress, l'exercice, la chaleur, etc.).³⁹⁷

1.4.8.2. Physiopathologie des symptômes inflammatoires

Les lésions inflammatoires, papulopustuleuses, de la rosacée sont, elles, considérées comme étant secondaires à un **dérèglement du système immunitaire local**,³⁹⁸ et ceci depuis la parution dans la revue « Nature » d'une étude de biologie moléculaire en 2007.³⁹⁹ Depuis, d'autres études décryptent, petit à petit, d'autres volets complémentaires de cette réaction inflammatoire, ce qui aboutit à des schémas physiopathologiques extrêmement compliqués avec des cascades de réactions fortement interconnectées en tous sens (§ 7.4.).

1.4.8.2. A. Cathélicidines LL-37 via la vitamine D

L'immunité innée a pour fonction de fournir une réponse initiale rapide aux agents pathogènes, mais doit également identifier et minimiser la réponse immunitaire à la microflore commensale.⁴⁰⁰ Dans la rosacée, l'immunité innée serait dérégulée : d'après les auteurs qui l'ont mise en évidence, **une augmentation initiale des Toll-like récepteurs (TLR2) expliquerait pourquoi les patients atteints de rosacée réagiraient de façon excessive à divers stimuli** (soleil, facteurs favorisant les flushs (épices, chaleur, position tête en bas, froid,...), bactéries, Demodex,...) **dans un environnement normal**, en déclenchant une cascade inflammatoire impliquant la vitamine D.⁴⁰¹ Cette hypothèse a de suite été acceptée avec grand enthousiasme dans le monde dermatologique : vu l'importance qui lui a été accordée, nous pensons utile de la détailler ci-après (elle sera discutée au § 3.9.B).

Depuis longtemps, la vitamine D était connue pour être synthétisée au cours d'étapes successives dans la peau, le foie et les reins et pour jouer un rôle important dans l'homéostasie calcique et le métabolisme osseux.^{402,403} Ensuite, il a été découvert qu'elle était en fait une véritable hormone, qui intervient dans la régulation de multiples organes (cerveau, système cardio-vasculaire, muscles, pancréas, ...) et aussi dans la régulation des cellules immunitaires.⁴⁰³ La vitamine D est ainsi également un important immunomodulateur,⁴⁰²⁻⁴⁰⁴ et ce, d'autant plus qu'elle peut être synthétisée à l'intérieur d'autres cellules, comme les kératinocytes, les sébocytes et les cellules immunitaires, où elle initie la cascade de la synthèse d'un important peptide antimicrobien, la cathélicidine (Fig. 59).⁴⁰²⁻⁴⁰⁴ Elle est aussi indispensable au bon fonctionnement des kératinocytes et à la formation de la barrière épidermique.⁴⁰²

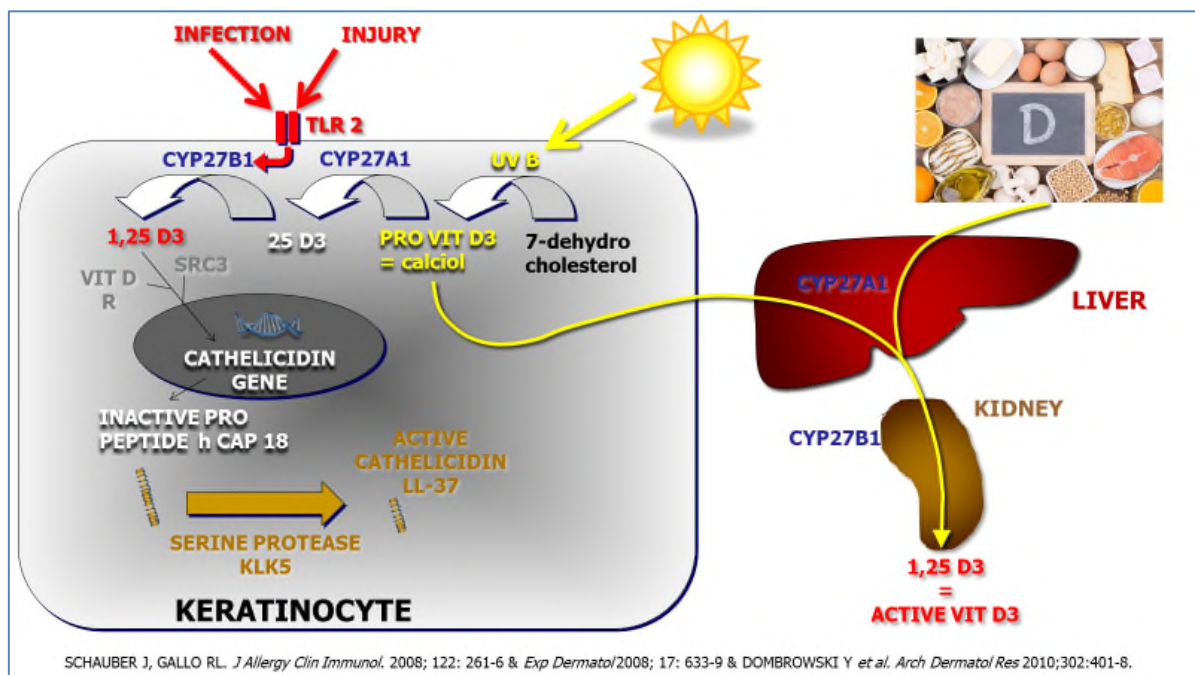
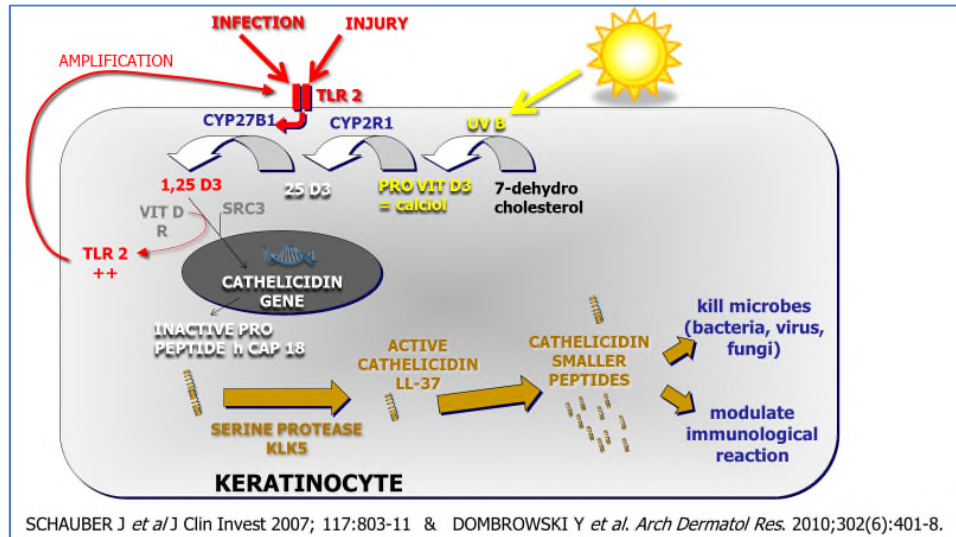


Fig. 59. A côté de la voie hépato-rénale, la synthèse physiologique de la vitamine D3 dans les kératinocytes permet un contrôle rapide de l'expression de la synthèse de la cathélicidine LL-37.⁴⁰² Le précurseur de la vitamine D subit 2 hydroxylations successives, devient la vitamine D active, qui s'unit à son récepteur, recrute différents co-activateurs pour former un complexe qui conduit à l'activation du gène qui induit la synthèse d'un précurseur inactif de la cathélicidine ; celui-ci est ensuite coupé par une sérine protéase en LL-37 actifs.^{405,406} Abréviations : CYP : hydroxylase ; KLK5 : protéase kallikréine 5 ; SRC3 : récepteur stéroïdien coactivateur 3 ; TLR2 : récepteur Toll-2 ; VIT D R : récepteur de la vitamine D.

Dans une peau saine, la majorité de la cathélicidine LL-37 est transformée en peptides plus petits, qui tuent les microbes, mais aussi initient et modulent la réponse immunitaire (Fig. 60).⁴⁰⁵ Cette cascade de l'immunité innée est déclenchée quand les récepteurs Toll-2 reconnaissent une infection ou un traumatisme, et stimulent alors la deuxième hydroxylation de la vitamine D.⁴⁰⁷ Comme cette même vitamine D3 induit à

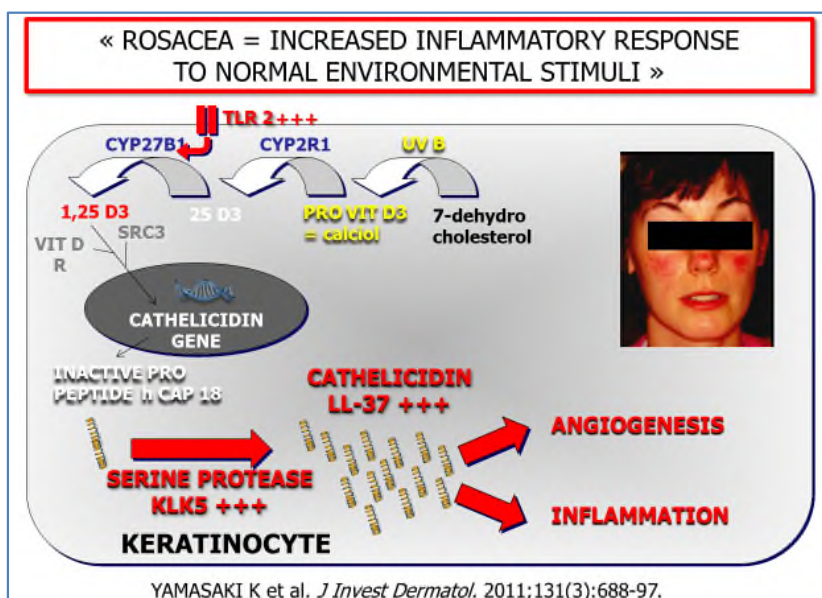
son tour une augmentation des TLR2 dans les kératinocytes, une **boucle d'amplification** s'installe (Fig. 60).⁴⁰⁷ Par ailleurs, cette vitamine D endocrine pourrait aussi intervenir dans la régulation des fonctions des sébocytes, y compris la production de sébum.⁴⁰⁴

Fig. 60. Représentation schématique de la **synthèse physiologique des petits peptides de cathélicidines** qui participent à l'immunité innée, à partir de la vitamine



D3 dans les kératinocytes,⁴⁰⁵ et de la boucle d'amplification entre la vitamine D3 active et les TLR2.⁴⁰⁷ **Abbréviations :** CYP : hydroxylase ; KLK5 : protéase kallikréine 5 ; SRC3 : récepteur stéroïdien coactivateur 3 ; TLR2 : récepteurs Toll-2 ; VIT D R : récepteur de la vitamine D.

En 2007, Yamasaki *et al.* ont découvert que les patients atteints de rosacée présentaient un **taux anormalement élevé d'une forme anormale de cathélicidine**, qui serait responsable de l'angiogenèse et l'inflammation observés dans la rosacée.³⁹⁹ Ils ont aussi mis en évidence que ceci était la conséquence d'une surproduction d'une protéase locale, qui elle-même était secondaire à une surexpression des gènes des TLR2, qui stimulent directement l'enzyme de la seconde hydroxylation de la vitamine



D (Fig. 61).⁴⁰⁸ De plus si, in vitro, on bloque le récepteur de la vitamine D, on bloque la production de cathélicidine.⁴⁰²

Fig. 61. Représentation schématique des **travaux et interprétations de Yamasaki et Gallo**, concernant la chaîne inflammatoire observée dans la rosacée.^{401,408}

Yamasaki et Gallo interprètent leurs résultats en 2011 : pour eux, **la RPP est avant tout une maladie du système immunitaire, l'augmentation des TLR2 induisant une réponse inflammatoire accrue à un environnement normal.**⁴⁰¹

Une étude semble confirmer l'atteinte de cette voie inflammatoire dans la rosacée, car elle a observé que, chez les patients avec rosacée fulminans, l'allèle codant pour une forme moins active du récepteur de la vitamine D3 prédominerait (ce qui nous semble plutôt paradoxal...)³⁵¹

1.4.8.2. B. Cathélicidines LL-37 via le stress du réticulum endoplasmique

Depuis, a été décrite une autre voie qui stimule également la synthèse de cathélicidines dans les kératinocytes : indépendante de celle de la vitamine D, elle semble même l'inhiber et passe par le **stress du réticulum endoplasmique** (Fig. 62).⁴⁰⁹ Les deux voies pourraient alternativement réguler la synthèse de cathélicidine, en fonction de l'état de stress de la cellule.⁴⁰⁹

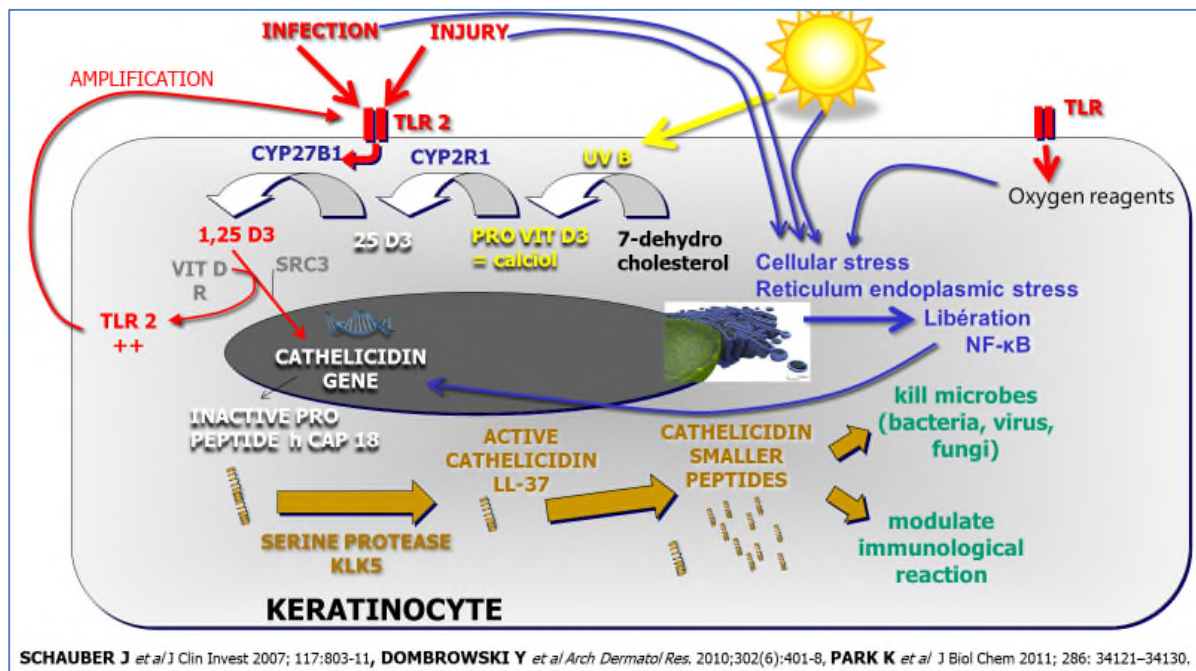


Fig. 62. Représentation schématique des **deux voies de synthèse de cathélicidine** : via la vitamine D et via le stress du réticulum endoplasmique.

Les récepteurs type Toll induisent aussi des dérivés réactifs de l'oxygène, qui, en excès, peuvent endommager les structures cellulaires : c'est ce qu'on appelle le **stress oxydant**.⁴¹⁰ Celui-ci, mais aussi d'autres agresseurs (comme l'altération de la barrière épidermique et les UVs) peuvent induire, par l'intermédiaire des récepteurs cellulaires (TLR et autres types), une accumulation de protéines mal repliées dans le réticulum endoplasmique (appelée **stress du réticulum endoplasmique**) et l'adaptation cellulaire qui s'ensuit (arrêt de la synthèse des protéines, dégradation des protéines mal repliées, activation du bon repliement des protéines, ou, à défaut, apoptose) ainsi que la production, en aval, d'un facteur de transcription (anti-apoptotique), le NF-κB, qui stimule également la synthèse de cathélicidine.⁴⁰⁹

1.4.8.2. C. La cathélicidine LL-37 accroît la sensibilité aux UVs

De plus, l'expression des cathélicidines LL-37 semble stimuler l'activité des cellules endothéliales après l'exposition aux UV et peut conduire à une **sensibilité accrue aux rayons UVB**.^{411,412}

1.4.8.2. D. Les mastocytes, sources de LL-37, relayent l'inflammation

Par ailleurs, les mastocytes, augmentés dans le derme des patients avec rosacée, semblent indispensables pour relayer la réaction inflammatoire déclenchée dans les kératinocytes. La cathélicidine LL-37, larguée à partir de l'épiderme, stimule vraisemblablement les mastocytes dermiques à produire **encore plus de cathélicidine LL-37**, et à sécréter leurs **protéases**, qui recrutent d'autres cellules immunitaires qui amplifient la réponse inflammatoire, mais provoquent également une vasodilatation et l'angiogenèse.⁴¹³ Leurs **métalloprotéinases** et une de leurs cytokines (le facteur de croissance transformant bêta-1 (**TGF-β1**), augmentée dans le rhinophyma)²²⁸ induisent la fibrose^{318,357} et leur **tryptase** a des effets chimiotactiques et mitogènes sur les fibroblastes.³⁵⁷ Ceci pourrait expliquer l'évolution clinique de **l'œdème chronique vers la fibrose**, comme dans le lymphœdème chronique au niveau des jambes aboutissant à l'éléphantiasis.²³⁰

1.4.8.2. E. Immunotolérance perdue en cas de rosacée

Une étude récente a montré que, dans la peau saine, **un climat d'immunotolérance élevé régnait dans les zones riches en glandes sébacées** par rapport aux zones pauvres en glandes sébacées, permettant vraisemblablement le développement de la flore commensale.³⁵⁵ Elle a aussi montré que cette immunotolérance était perdue en cas de RPP, par rapport aux zones saines riches en glandes sébacées.

La lymphopoïétine stromale thymique (thymic stromal lymphopoietin (**TSLP**)) est une importante cytokine d'origine kératinocytaire qui module les fonctions des cellules dendritiques et dont la sécrétion est stimulée par une infection, un traumatisme ou/et une inflammation.⁴¹⁴ Il existe deux formes de TSLP qui régulent de façons opposées les cellules dendritiques : une isoforme courte qui **induit la tolérance** (vis à vis de la flore commensale), et une isoforme longue pro-inflammatoire qui n'est observée que dans les inflammations.⁴¹⁵

Dans la peau « saine » riche en glandes sébacées, par rapport aux zones pauvres en glandes sébacées, sont retrouvées : plus de TSLP (exprimée dans les kératinocytes et les glandes sébacées, elle est quasi absente de la peau pauvre en glandes sébacées), plus de cellules dendritiques (mais qui sont non inflammatoires, non activées), plus de lymphocytes T (mais essentiellement de type non-inflammatoire (Th 17β) produisant de l'IL-10 et IL-17) et des lymphocytes T régulateurs (exprimant le gène FOXP3) (Fig. 63).³⁵⁵

Dans la rosacée papulopustuleuse, par rapport à la peau saine riche en glande sébacées, ils retrouvent : moins de TSLP, plus de cellules dendritiques (et celles-ci sont activées/matures), les lymphocytes T affluent et deviennent de type inflammatoire (Th1 et Th17(23)) produisant de l'IL-17 et de l'interféron gamma, mais aussi de type régulateurs.³⁵⁵ Les auteurs attribuent cette perte de tolérance à l'altération du sébum constatée chez les patients atteints de RPP.³⁵⁵

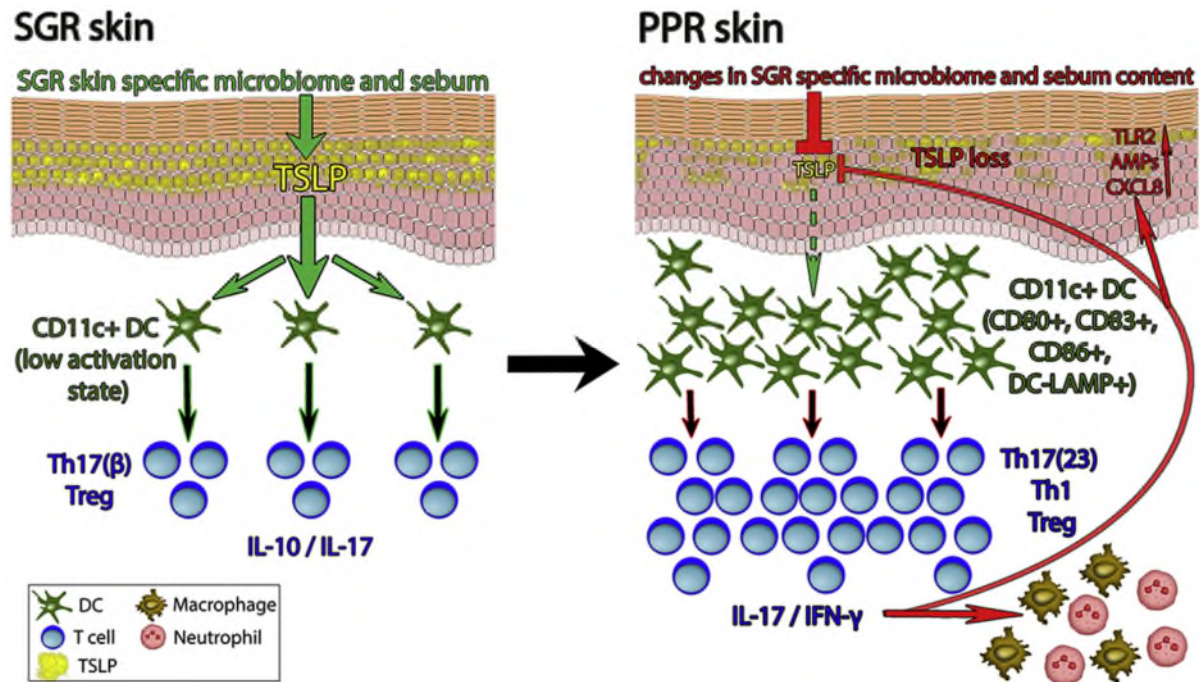


Fig. 63. Représentation schématique de « la **rupture du milieu spécial non inflammatoire** de la peau saine riche en glandes sébacées, qui peut entraîner le développement d'une inflammation spécifique à la rosacée ».

A gauche : dans la peau saine riche en glandes sébacées (SGR skin), en présence de TSLP produite par les kératinocytes, les cellules dendritiques (DC) infiltrant la peau sont non inflammatoires et les cellules T sont des lymphocytes T régulateurs (T reg) et Th17(β).

A droite, la rosacée papulopustuleuse (PPR skin) est caractérisée par l'altération de la composition du sébum, la diminution de la production de TSLP, une pléthore de cellules inflammatoires (cellules dendritiques, lymphocytes T, macrophages, mastocytes et neutrophiles) et la rupture du milieu non inflammatoire. Dans la RPP, une inflammation de type IL-17/IFN-γ [Th17(23), Th1] se développe, et comme l'IL-17 est capable d'inhiber l'expression de la TSLP, cela peut conduire à un cercle vicieux.

Abréviations : AMP, peptide antimicrobien ; CXCL8, chimiokine (CX-C motif) ligand 8 (=IL8) ; DC, cellule dendritique ; KC, kératinocyte ; PPR, rosacée papulopustuleuse ; SGR, riche en glandes sébacées ; Th, T helper ; Th17(β), lymphocyte Th17 non pathogénique ; Th17(23), lymphocyte Th17 pathogénique ; TLR2, récepteur de type Toll 2 ; Treg, lymphocyte T régulateur ; TSLP, lymphopoïétine stromale thymique. Cette figure est reproduite depuis « Dajnoki Z *et al.* Sebaceous Gland-Rich Skin Is Characterized by TSLP Expression and Distinct Immune Surveillance Which Is Disturbed in Rosacea. *J Invest Dermatol* 2017; 137: 1114–25». ³⁵⁵

1.4.8.3. Le microbiote associé à la rosacée

Jusqu'à présent, le *Staphylocoque epidermidis* est la seule bactérie qui ait été retrouvée de façon significative dans la peau des patients atteints de rosacée via un milieu de culture classique,²⁷³ les frottis bactériologiques standards des pustules de rosacée étant en général négatifs. Via la technique plus récente de PCR, des germes non détectés auparavant ont pu être mis en évidence (§ 1.3.6.), mais les résultats de quelques études actuelles restent relativement **discordants**, que ce soit au niveau du microbiote cutané ou digestif associé à la rosacée.⁴¹⁶ Ceci est probablement lié aux nombreux facteurs pouvant influencer ces microbiotes (l'alimentation, l'âge, le stress, l'environnement,...), facteurs qui peuvent varier selon les études ; de plus, il existe également de grandes différences interpersonnelles dans le microbiote humain.⁴¹⁶

Ainsi, au niveau cutané, une étude sur jumeaux atteints (n=18) ou pas (n=48) de rosacée, ne retrouve **pas de différence** de microbiote cutané entre les deux groupes, mais bien une variation d'abondance de genres de bactéries en fonction de la **gravité** de rosacée.⁴¹⁷ Une autre étude met par contre en évidence des **différences significatives** de microbiote chez les patients atteints de RET (déplétion de 6 espèces) et chez ceux atteints de RPP (déplétion de 6 espèces et plus grande abondance en 5 espèces) par rapport aux contrôles sains.⁴¹⁸ Parmi les cinq espèces plus fréquemment rencontrées chez les patients atteints de RPP,⁴¹⁸ se retrouve le *Corynebacterium kroppenstedtii*, soupçonné d'être l'endobactérie des Demodex (§ 1.1.4.2. C.),⁶⁷ dont l'abondance **augmente avec l'intensité** et l'extension de la rosacée.⁴¹⁸

Cependant, le *Cutibacterium acnes* (= *Propionibacterium acnes*) est l'espèce la plus communément retrouvée chez tous les sujets (les malades et les contrôles),⁴¹⁸ ce qui était aussi le cas dans l'étude de Murillo *et al* qui étudiait les bactéries à l'intérieur des Demodex.²⁷⁵ Mais une autre étude observe que la prévalence du *Cutibacterium acnes* **diminue avec la sévérité** de la rosacée, et avec l'âge (alors que celle de la rosacée augmente avec l'âge),²⁷⁴ et qu'elle n'est pas la première mais la seconde espèce la plus communément retrouvée dans la rosacée (13% des cas), après le *Staphylococcus epidermidis*, retrouvé dans 28% des cas.²⁷⁴

1.4.8.4. Le rôle controversé du Demodex

Le Demodex est soupçonné causer les lésions inflammatoires de la rosacée depuis 1925,⁵ et les études soutenant cette hypothèse n'ont fait que s'accumuler, surtout ces dernières années (§ 5.2.1.1.). Mais autant l'hypothèse de Yamasaki *et al* a été instantanément acceptée par l'opinion internationale, autant le rôle du Demodex a toujours été fortement controversé, essentiellement parce qu'il est impossible d'établir sa pathogénicité sur base des postulats de Koch (§ 1.4.8.4. B.).²¹⁸

1.4.8.4. A. Les objections déclarées sont multiples

1. Certains arguments des années 70-80 (le Demodex est peu retrouvé dans les biopsies de rosacée, l'inflammation n'est pas située autour des follicules et de surcroît non associée aux follicules infestés) sont aujourd'hui devenus obsolètes (§ 1.4.4. et 3.2.) ;
2. Certains auteurs croient que toutes les RPPs n'ont pas une densité élevée en Demodex^{318,344} et donc que sa prolifération n'est pas la principale cause de la RPP et/ou qu'elle ne joue un rôle que dans certaines formes de rosacée^{107,344} ou même exceptionnellement, dans une minorité de cas ;^{147,419}
3. Certains croient que le parasite ne peut pas être pathogène parce qu'il est présent chez tous les individus, ou objectent que le rôle du Demodex est douteux puisqu'il peut être observé en très grande densité sans pour autant entraîner des symptômes importants;^{40,344}
4. Certains pensent que sa prolifération pourrait très bien être la conséquence^{73,420} et non la cause des symptômes observés et donc qu'elle pourrait n'être qu'un épiphénomène,⁷³ juste un marqueur de la maladie,⁴²¹ ou alors un facteur d'aggravation secondaire :^{112,387,422,423} **l'inflammation initiale favoriserait la prolifération de Demodex, qui, ensuite, pourrait dès lors exacerber la maladie** ;^{56,112,225,420,423,424} **cette hypothèse semble prépondérante actuellement** ;
5. D'autres font remarquer que la plupart des médicaments actifs dans la rosacée n'ont aucune activité antiparasitaire,^{228,314} ou qu'un traitement soufré 2x/j pendant 28 jours d'un seul côté du visage diminue les symptômes, sans qu'il y ait, à la biopsie punch de 3 mm, une diminution de parasites observés du côté traité par rapport au côté non traité ;⁴²⁵
6. Ou que le traitement acaricide ne guérit pas définitivement les patients ;³⁴⁴
7. Certains pensent que la démodécie est une autre maladie que la rosacée, sur base d'un seul cas clinique observé, au vu que la démodécie a répondu au traitement acaricide et non au traitement de la rosacée par métronidazole per os;¹⁴²
8. Enfin, d'autres croient que le Demodex pourrait éventuellement causer la rosacée, mais indirectement, par l'intermédiaire de son endobiote.^{314,426}

1.4.8.4. B. Les postulats de Koch ne sont pas remplis par le Demodex

Les postulats de Koch sont les premiers véritables critères à avoir été proposés pour établir la relation de cause à effet reliant un agent causal infectieux à une maladie. Ils ont été introduits initialement en 1884 pour établir aux yeux des sceptiques l'étiologie de la tuberculose et donner aux microbiologistes des critères rationnels permettant d'attribuer une cause à une maladie. Trois premiers critères ont été définis et publiés par Koch en 1890 et un 4^o critère a été rajouté par d'autres par la suite (il n'a pas été établi par Koch lui-même) :⁴²⁷

1. Le micro-organisme doit être présent en abondance dans tous les organismes souffrant de la maladie, mais absent des organismes sains.
2. Ce micro-organisme doit pouvoir être isolé et croître en milieu de culture pur (ne contenant que ce seul microbe).
3. Le micro-organisme cultivé doit déclencher la même maladie chez un animal de laboratoire sensible.
4. Le micro-organisme doit être à nouveau isolé du nouvel organisme hôte rendu malade, puis identifié comme étant identique à l'agent infectieux original.

Le Demodex ne remplit donc absolument pas les postulats de Koch : ^{59,107,154}

1. Comme le *D. folliculorum* est présent chez tout individu adulte, il n'est pas absent des organismes sains.
2. Comme il est un parasite obligé spécifique de son hôte, il ne pourra probablement jamais être cultivé dans un milieu de culture pur. Pour cultiver le *D. folliculorum*, il faudra probablement la structure du follicule ET l'origine humaine des follicules (§ 1.1.6.).
3. Comme le *D. folliculorum* est un parasite obligé de la peau humaine, une infestation expérimentale animale massive ne pourra pas non plus être réalisée étant donné sa spécificité de l'espèce-hôte : il ne pourra vraisemblablement pas se développer chez un animal.
4. Et en conséquence, l'isolation ultérieure du nouvel organisme hôte rendu malade ne sera pas possible non plus.

1.4.8.5. Synthèse de l'hypothèse physiopathologique actuelle dominante

On considère actuellement que cause principale de la rosacée est **une réaction immunitaire en cascade, innée puis adaptative, qui s'emballe, combinée à une inflammation neurogène locale responsable d'une dysrégulation neuro-vasculaire** (Fig. 64). Ce processus inflammatoire continu (§ 1.4.4.)^{152,227,344,353,357} permet d'intégrer à la fois les symptômes vasculaires, inflammatoires et hypertrophiques.

Le Demodex est actuellement considéré comme l'un des stimuli de la cascade inflammatoire.^{231,318,396,410,424,428} Néanmoins, ces dernières années, les schémas physiopathogéniques de la rosacée lui accordent **une place de plus en plus importante** (Annexe § 7.4.), ce qui est probablement dû en partie à l'arrivée de l'ivermectine topique sur le marché pour traiter la rosacée (§ 1.4.9.2.) et en partie peut-être aussi à notre article réagissant aux publications de Yamasaki et Gallo (§ 3.9). Mais, encore en 2018, certains ne lui accordent qu'une place très négligeable, en ne le citant même pas dans leur revue, pourtant exhaustive, de la rosacée; tout au plus est-il peut-être sous-entendu dans le mot « microbe » (§ 7.4.).⁴²⁹

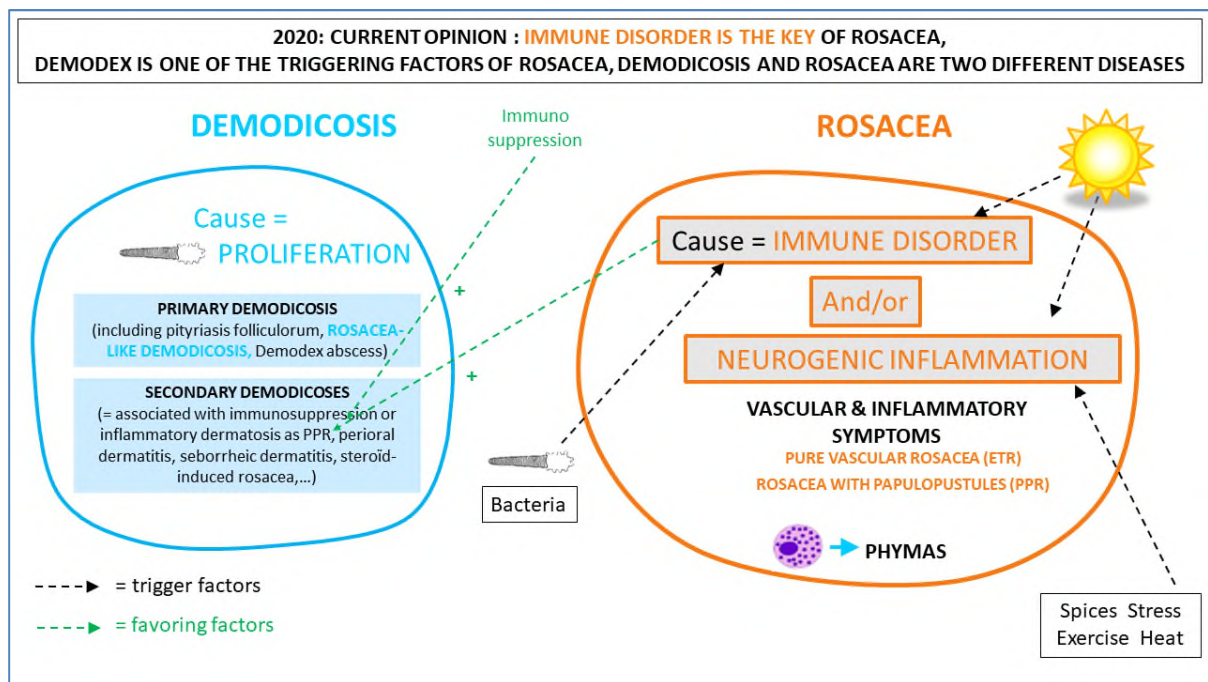


Fig. 64. Représentation schématique de l'opinion dominante actuelle concernant la physiopathologie et la nosologie de la rosacée et des démodécies, qui sont considérées comme deux maladies différentes : le Demodex est la cause des démodécies, mais n'est qu'un des facteurs déclenchants/stimulants/aggravants de la réaction inflammatoire débridée qui, elle, serait la cause de la rosacée. Pour Buddenkotte *et al*, la rosacée serait une réaction inflammatoire où s'entremêlent inflammation neurogène et immunité innée, ayant chacune leur stimuli (§ 7.4. Fig (e), résumée ici).³¹⁸ Pour Chen et Plewig, la rosacée est un des facteurs favorisant la démodécie qu'il interprète comme étant alors « secondaire » (§ 3.11).¹¹⁰

1.4.8.6. Comorbidités surprenantes

1.4.8.6. A. Comorbidités associées à la rosacée

Depuis longtemps, la coexistence de troubles divers a été rapportée chez les patients atteints de rosacée,^{218,430} et remise en question.⁴³¹ Parmi eux, citons l'infection gastrique par *Helicobacter pylori* qui a fait couler beaucoup d'encre :⁴³²⁻⁴³⁸ les associations n'ont pas été retrouvées dans toutes les études,⁴³⁹⁻⁴⁴¹ mais les améliorations ou guérisons de rosacées après traitement antibiotique (dont métronidazole) de l'*Helicobacter* sont interpellantes,⁴³⁴⁻⁴³⁶ bien que non confirmées dans toutes les études.⁴⁴² Une hypothèse intéressante tentait d'expliquer cette association : l'*Helicobacter pylori* produit une enzyme, l'uréase, qui scinde l'urée en CO₂ et en ammoniac, étant ainsi responsable d'une augmentation du pH gastrique qui stimule alors la sécrétion de gastrine à partir de la muqueuse gastrique dans la circulation générale, ce qui, au niveau gastrique, stimule la sécrétion gastrique d'acide, et au niveau cutané, stimule la vasodilatation. L'*Helicobacter pylori* pourrait donc indirectement induire les flushes.⁴⁴³ Mais cette association n'a jamais été vraiment confirmée.^{439,442-444} Seule la coexistence de **migraines**^{315,445,446} semblait

avoir une certaine cohérence, pouvant être reliée aux interactions neurovasculaires de la rosacée, et donc à sa relation avec le cerveau.^{389,447}

Cependant, ces dernières années, les comorbidités ont été remises à l'honneur, posant la question de savoir si **la rosacée ne serait pas la partie cutanée visible d'une maladie systémique sous-jacente.**⁴⁴⁸ Beaucoup ont comme point commun avec la rosacée **l'inflammation chronique et l'atteinte vasculaire.** Ainsi, chez les patients avec rosacée, ont été signalées des augmentations du risque de :

- maladies métaboliques : cardiovasculaires, hypertension artérielle, dyslipidémie, maladie coronarienne,⁴⁴⁹⁻⁴⁵¹
- maladies urogénitales et déséquilibre hormonal féminin,⁴⁵¹
- maladies neuropsychiatriques : anxiété, dépression, maladie de Parkinson,^{384,452} sclérose en plaques,³⁸³ gliome,⁴⁵³ démence (particulièrement la démence d'Alzheimer),⁴⁵⁴
- carcinomes basocellulaires et cancers de la thyroïde (mais pas d'autres cancers),⁴⁴⁸
- reflux gastro-œsophagien, et autres maladies gastro-intestinales,⁴⁵¹ SIBO (Small Intestinal Bacterial Overgrowth : affection intestinale liée à la présence excessive et anormale de bactéries dans l'intestin grêle),^{395,455} maladies inflammatoires intestinales (maladie coeliaque,³⁸³ maladie de Crohn, colite ulcéreuse, syndrome du côlon irritable et infections à *Helicobacter pylori*),⁴⁵⁶
- maladies auto-immunes (diabète type 1, polyarthrite rhumatoïde),³⁸³
- et même d'allergies (aéroportées, alimentaires) et de maladies respiratoires.⁴⁵¹

La **rosacée fulminans** a été décrite associée à une colite ulcéreuse, et favorisée par la prise de hautes doses de vitamine B6 et B12.^{348,350}

Certains patients présentent une rosacée avec érythème facial persistant dont le symptôme prédominant est une **douleur et/ou une sensation de brûlure disproportionnée** par rapport aux bouffées de chaleur, si bien que certains auteurs parlent dans ce cas de « **rosacée neurogène** ». ^{457,458} Cette rosacée particulière serait fréquemment associée à d'autres co-morbidités (syndrome douloureux régional complexe (anciennement appelé algodystrophie), tremblement essentiel, dépression, troubles obsessionnels compulsifs, maux de tête, phénomène de Raynaud, troubles rhumatologiques (lupus, polyarthrite rhumatoïde), fibromyalgie, connectivite mixte, arthrite psoriasique...).⁴⁵⁷

Une étude associe bon nombre de ces comorbidités à la **sévérité de la rosacée** : hyperlipidémie, hypertension, troubles métaboliques, maladies cardiovasculaires et reflux gastro-œsophagien y sont associés à la rosacée modérée à sévère.⁴⁵¹ **Certains auteurs suggèrent ainsi de rechercher ces comorbidités chez les patients atteints de rosacée,**^{450,453,456,459} **surtout chez les patients avec rosacée modérée à sévère.**⁴⁵¹

Cependant toutes les observations ne sont pas cohérentes : alors que différents paramètres rencontrés dans le syndrome métabolique sont retrouvés associés à la rosacée, le syndrome métabolique lui-même ne l'est pas;⁴⁵⁰ alors que la rosacée est associée à une résistance à l'insuline,⁴⁵⁰ l'état avancé du diabète sucré a été récemment associé à une diminution du risque de rosacée.⁴⁶⁰

Ainsi, la National Rosacea Society américaine pense qu'**il est trop tôt pour établir une réelle relation causale.**⁴²¹

1.4.8.6. B. Paramètres communs entre la rosacée et ses comorbidités

Afin de tenter de comprendre la coexistence de ces maladies, à priori indépendantes, avec la rosacée, des paramètres communs ont été mis en évidence, dont une très belle synthèse vient d'être publiée par Holmes *et al* (Annexe § 7.5.) :⁴⁶¹

- des caractéristiques génétiques et des facteurs de risque environnementaux, qui peuvent expliquer comment un facteur peut agir parallèlement sur deux maladies ;
- certains éléments de l'inflammation innée et de l'immunité adaptative, qui peuvent témoigner de mécanismes inflammatoires semblables.⁴⁶¹

1.4.8.6. C. Interconnexions probables entre la rosacée et ses comorbidités

La coexistence de ces maladies pourrait aussi résulter de **l'influence réciproque** d'une maladie sur l'autre, par l'intermédiaire de **la circulation sanguine.**

1.4.8.6. C.1. Le stress oxydatif

Différents paramètres témoignant de l'augmentation du stress oxydatif sont retrouvés non seulement dans la peau des patients atteints de rosacée²¹³ mais aussi **dans leur sang** :²⁴⁰ (1) une augmentation de myeloperoxydases, de métalloproteinases⁴⁵³ (impliquées dans le remodelage des tissus, le développement des organes, et la régulation de processus inflammatoires, elles sont augmentées chez les patients avec gliome et différentes atteintes neurologiques),⁴⁵³ (2) une diminution du taux sérique d'une enzyme antioxydante et anti-inflammatoire ayant un rôle anti-athéromateux (paraoxonase-1) et (3) une augmentation des lipides peroxydés.^{240,462,463}

Fait particulièrement intéressant en ce qui concerne le Demodex, une étude a montré que les patients avec rosacée et haute Dd, sans comorbidité connue, présentaient un niveau de stress oxydatif augmenté dans le sang ; ce qui suggère que ce stress serait causé par la rosacée et non par une comorbidité et que **les patients atteints de rosacée pourraient développer par après des comorbidités.**²⁴⁰

1.4.8.6. C.2. L'inflammation neurogène & les métabolites intestinaux

Bien que la migraine soit actuellement la seule comorbidité connue qui partage les voies inflammatoires neurogènes classiques avec la rosacée,⁴⁶¹ d'autres comorbidités pourraient très bien être expliquées par ce mécanisme. En effet, la **substance P**, médiatrice de l'inflammation neurogène, présente dans la rosacée (§ 1.4.8.1.),^{357,396} est augmentée non seulement autour des vaisseaux dermiques superficiels des papules de rosacée³⁹⁰ mais aussi **dans le sérum** des patients atteints de rosacée.³⁹¹ Or, la substance P est aussi un **neurotransmetteur** associé à la régulation des troubles de l'humeur, de l'anxiété, du rythme respiratoire, de la motilité intestinale, des nausées et de la douleur, qui exacerbe également l'inflammation au niveau des sites périphériques, notamment la peau, le tractus gastro-intestinal et les poumons.⁴⁶⁴ Par ailleurs, la concentration sérique de la substance P est influencée par le contenu intestinal : il a été démontré que le **microbiote intestinal**, influencé par le régime alimentaire, produit des métabolites pro- ou anti-inflammatoires qui, via la circulation sanguine, peuvent agir à distance sur la peau.⁴⁶⁵ Le microbiote intestinal augmente les niveaux de la substance P, et inversement, les probiotiques peuvent réduire la libération de la substance P.⁴⁶⁵ Le système digestif et la peau sont donc interconnectés et peuvent s'influencer mutuellement, expliquant en partie les comorbidités intestinales.⁴⁶⁵

1.4.8.6. C.3. Les hormones & la glande sébacée

En plus de la substance P, de nombreuses **hormones intervenant dans la régulation du stress** par le SNC sont également produites par la peau, et y ont également des récepteurs cibles : l'hormone corticotrope (ou adrénocorticotrophine (ACTH)), le cortisol, les cathécholamines, l'acétylcholine (ACh), etc.^{393,404} De multiples interactions entre les différents organes pourraient dès lors être possibles via ces hormones.³⁹³ Plus précisément, les glandes sébacées, à la fois cibles de neuropeptides et sources de cytokines/chimiokines pro-inflammatoires et de peptides anti-microbiens, sont considérés comme partie intégrante du système immunitaire, le « **cerveau de la peau** »,^{349,404} et leur rôle crucial dans la rosacée est actuellement source de grand intérêt.^{358,466}

1.4.9. Traitement

1.4.9.1. Traitements classiques

Depuis des dizaines d'années, le traitement des papulopustules de la rosacée est symptomatique, antiinflammatoire, et long : six à 12 semaines sont généralement nécessaires avant de pouvoir juger de son efficacité, bien que cela varie en fonction des traitements.³¹⁴ Il est recommandé de traiter d'abord les papulopustules et ensuite

l'érythème persistant, et de traiter le patient jusqu'à disparition totale des symptômes.³⁶³

1.4.9.1. A. Recommandations générales

Il est classiquement recommandé d'éviter :³⁹⁷

- tous les facteurs favorisant la vasodilatation des vaisseaux de la face (boissons chaudes, repas épicés, fromage, vin rouge, colère, soleil....) ;
- les topiques gras, les savons, toniques et autres irritants, car la peau des patients atteints de rosacée est hypersensible et intolérante ; ce qui est attribué à une déficience de la fonction barrière de la couche cornée, qui entraîne une perte d'eau.

Et il est recommandé d'utiliser :

- des cosmétiques bien tolérés : savons doux, produits hydratants non occlusifs,
- des écrans solaires, SPF (Sun Protection Factor) 30 au minimum, couvrant à la fois les UVA et les UVB, de préférence des écrans physiques (avec dioxyde de titane et oxyde de zinc) qui sont mieux tolérés.

1.4.9.1. B. Pour lutter contre les phénomènes vasculaires

- Pour lutter transitoirement contre **l'érythème persistant**, des vasoconstricteurs sympathicomimétiques en usage topique sont proposés. Ils provoquent la vasoconstriction des capillaires dermiques durant un temps limité et agissent principalement sur l'érythème mais pas sur les télangiectasies.³¹⁴ la **brimonidine** (agoniste α_2 adrénergique sélectif, gel à 0,5% Mirvaso[®]) et, aux USA, l'oxymetazoline (agoniste α_1 (et partiellement α_2) adrénergique sélectif, crème à 1%).³⁰⁸ L'amélioration est spectaculaire, visible dans les 30 minutes et atteint son maximum entre 3 et 6 heures après l'application, après quoi les effets diminuent progressivement.³⁰⁸ Ce traitement est donc symptomatique : les patients de notre consultation préfèrent en général une solution plus définitive, comme la lumière pulsée ou le laser. Certains auteurs recommandent l'utilisation de la brimonidine **après le laser**, quand le laser ne donne pas pleine satisfaction.⁴¹⁹
- **Pour l'érythème et les télangiectasies persistantes**, le laser à colorant pulsé (Pulsed dye laser (PDL)), le laser Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet) et la lumière pulsée (Intense Pulsed Light (IPL)) ont montré un niveau de preuve faible à modéré.³³⁹ Les deux premiers ciblent l'oxyhémoglobine dans le système vasculaire tandis que la lumière pulsée émet un spectre de longueurs d'onde plus large ;⁴⁶⁷ elle présente l'avantage de couvrir de grandes surfaces de peau, d'être plus rapide et d'avoir plus de chances d'être acceptée par les patients.⁴⁶⁸ Histologiquement, son effet majeur serait de nécroser les Demodex par coagulation, et par là probablement de diminuer l'inflammation (les parasites recolonisant la peau 3 à 12 mois après le traitement).⁴⁶⁹ Le laser à colorant pulsé a, lui aussi, montré une

activité acaricide, attribuée à la chaleur obtenue dans la peau : après une seule séance, la densité en Demodex est diminuée lors du contrôle 3 semaines.⁴⁷⁰ Mais, paradoxalement, si ces thérapies sont appliquées d'emblée, elles peuvent provoquer une exacerbation de la rosacée, probablement liée à la mort massive de nombreux parasites (pas de tous car ils peuvent encore être observés après le traitement).⁴⁷¹ Par contre, le traitement par lumière pulsée a été rapporté diminuer le risque de récurrence après traitement acaricide per os.⁴⁶⁸ **Il convient donc de traiter d'abord les patients par acaricide, et ensuite de compléter éventuellement le traitement par laser ou lumière pulsée.**⁴⁷¹

1.4.9.1. C. Pour lutter contre les papules et les pustules

Jusqu'il y a peu, les traitements les plus utilisés étaient le métronidazole et l'acide azélaïque en topiques, et les antibiotiques oraux (doxycycline, tétracyclines).

1.4.9.1. C.1. Traitements locaux

Le métronidazole (à 0,75%⁴⁷²⁻⁴⁷⁴ ou, mieux, à 1%⁴⁷⁵⁻⁴⁷⁹ (Rozex ®)) a été introduit dans les années 1980 ; il s'applique 2X/j et agit vraisemblablement non pas par effet anti-bactérien,⁴⁸⁰ mais par action anti-inflammatoire, anti-oxydante⁴⁸¹ et sur l'immunité à médiation cellulaire.^{482,483} Certains auraient observé une nette diminution des Demodex après traitement oral^{148,196} ou local^{114,278} par métronidazole (§ 1.3.7.1.), ce qui a fait suggérer que cette molécule aurait une action acaricide directe,⁴⁸⁴ ou via ses métabolites.²⁸⁸ Mais cette action acaricide n'a jamais été clairement confirmée (§ 1.3.7.1. et § 3.4.). Notons que, en application locale, le métronidazole n'a pas d'influence sur la flore, ni cutanée, ni intestinale.⁴⁸⁰ Son action symptomatique explique à la fois pourquoi les papules disparaissent et pourquoi les rechutes sont si fréquentes dans la rosacée, même pendant le traitement (23%).⁴⁸⁵

L'acide azélaïque⁴⁸⁶ a été approuvé pour la rosacée en 2002 et en 2003, respectivement par la Food and Drug Administration (FDA) et l'agence européenne des médicaments (European Medicines Agency (EMA)).⁴⁸⁷ Il a une action anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne (sur le *Cutibacterium acnes*²⁷⁴ et le *Staphylococcus epidermidis*). Il inhibe également la kératinisation du follicule pilosébacé,^{487,488} et agit sur l'immunité innée en inhibant l'activité de la sérine protéase.⁴⁸⁹ En Belgique, à notre connaissance, jusqu'à présent, il est essentiellement utilisé dans l'acné (20% (Skinoren ®) 2X/j), mais dans d'autres pays, il est utilisé aussi dans la rosacée à la concentration de 15 à 20% 1 à 2x/j : il s'est en effet révélé au moins aussi efficace que le métronidazole dans la RPP.^{397,488} Comme il n'est ni mutagène, ni tératogène, il est relativement recommandé pendant la grossesse (bien que la notice le contraindique).³⁹⁷ Une nouvelle formulation de gel aqueux à 15% (Finacea®) est disponible en France (pas encore en Belgique) pour le traitement de la

rosacée : ce gel, bien que formulé à une concentration inférieure à celle de la crème, a une meilleure biodisponibilité en raison de son véhicule optimisé.⁴⁸⁷

D'autres traitements topiques ont aussi été utilisés pour traiter la rosacée, mais ils n'ont pas été validés par de multiples études cliniques contrôlées randomisées.³⁹⁷ La **clindamycine** en usage topique s'est montrée équivalente à la tétracycline per os,⁴⁹⁰ et, combiné dans un gel avec le peroxyde de benzoyle, plus efficace que le placebo.⁴⁹¹ Le **soufre** (sulfacétamide de sodium 10% et soufre à 5% à 10%),^{308,487,492,493} qui était déjà préconisé par Ayres,^{7,109,139,140} a été validé par trois études contrôlées (vs placebo,⁴⁹² vs métronidazole⁴⁹³ topiques et vs tétracyclines per os).⁴⁹⁴ Il a des propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et kératolytiques, ces dernières étant supposées détruire la cuticule du Demodex.⁴⁹³ Il est particulièrement recommandé en cas de rosacée **avec dermatite séborrhéique associée**, bien que certains préconisent plutôt l'acide azélaïque associé avec l'isotrétinoïne per os dans ce cas.³⁷² Le **lindane** a été utilisé dans le passé pour son action acaricide²⁸⁰ mais est actuellement interdit car toxique. La **perméthrine**,^{283,284,486} le **benzoate de benzyle** et le **crotamiton**³⁴² sont utilisés pour leur action acaricide,²⁶⁸ et les **rétinoïdes topiques** pour leur action anti-inflammatoire et kératolytique (l'adaptalène (actif sur les papules et les pustules), le retinaldéhyde) et des agents immunomodulateurs actifs sur l'érythème, pour leur action anti-inflammatoire (les inhibiteurs de la calcineurine (**tacrolimus/pimecrolimus**)).³⁹⁷ Mais ces agents immunomodulateurs peuvent être responsables d'une aggravation de la rosacée, entre autres par leur actions vasodilatatrices (ils libèrent des neuropeptides dont la substance P) et immunosuppressives pouvant potentiellement favoriser la prolifération de Demodex²⁵³ ainsi qu'une apparition de flushs importants après ingestion d'une quantité modérée d'alcool;⁴⁹⁵ leur indication n'est donc pas validée.^{253,397}

1.4.9.1. C.2. Traitements par voie orale

Le métronidazole a été utilisé per os (à la dose de 200 à 250 mg 2x/j pendant le premier mois, puis dose dégressive),^{483,496} avant d'être supplanté par son application locale.

Quand un traitement oral est nécessaire, le traitement par antibiotique oral est donné pendant 6 à 8 semaines. En Belgique, jusqu'à présent, nous utilisons surtout le lymécycline (Tétralysal® 300 mg) à la dose de 1 à 2 Co/j. La minocycline (Mino-50® 50 à 100 mg/j) est moins recommandée à cause de ses effets secondaires. La **doxycycline à libération modifiée** (Efracea®) à la dose de 40 mg/j (= 30 mg à libération immédiate + 10 mg à libération retardée) est le seul traitement oral recommandé à la fois par la FDA (depuis 2006) et l'EMA : à cette dose, elle est considérée dépourvue d'action antimicrobienne, donne moins d'effets secondaires

intestinaux et moins de résistances microbiennes aux antibiotiques que la dose classique de 100 mg/j.^{309,396} Les tétracyclines à la dose de 250-500 mg/1-2x/j ont également montré leur efficacité mais ont plus d'effets secondaires intestinaux que la doxycycline.^{308,497}

L'action des antibiotiques oraux dans la rosacée est classiquement attribuée à leur **action anti-inflammatoire** : les tétracyclines diminuent la migration leucocytaire et la phagocytose,^{490,496,498,499} et réduisent la teneur en acides gras irritants du sébum⁴⁹⁸ (qui, eux, pourraient être libérés par la lipase sécrétée par le Demodex).⁶⁶ En plus, la doxycycline a une action antioxydante, agit sur l'immunité innée en inhibant les métalloprotéinases matricielles et **modifie le microbiote**. Elle n'enlève rien à sa diversité, mais change les proportions relatives des différentes bactéries observées (diminution de *Staphylococcus epidermidis* et augmentation de *Weissella confusa*).²⁷⁴ Clanner-Engelshofen *et al* émettent l'hypothèse que les antibiotiques pourraient également tuer le ***Corynebacterium kroppenstedtii subsp.***, l'endosymbionte probable du Demodex, provoquant ainsi indirectement la mort des parasites.⁶⁷

1.4.9.1. C.3. Cas particuliers

Pour les RPPs rebelles, le traitement par faible dose d'isotrétinoïne par voie orale (0,5mg/kg. jour, 10 à 20 mg/j) pendant 2 à 6 mois est recommandé,^{308,309,313,500-503} son action dans la rosacée est attribuée à son effet anti-inflammatoire,⁵⁰⁴ inhibiteur des TLR2 et atrophiant de la glande sébacée,^{497,505,506} dont la taille se réduit jusqu'à 90% (Fig. 65).^{497,505-507}

Pour le lymphoedème, l'isotrétinoïne il est conseillée à la dose de 0,1-0,2 mg/kg. jour pendant 2 à 4 mois.⁵⁰⁸

Pour les phymas enflammés, sont recommandés la prise orale de doxycycline ou d'isotrétinoïne (qui diminue à la fois le volume des glandes sébacées de 50% environ et le nombre des sébocytes différenciés).^{497,509} La chirurgie ou le laser ablatif aide les patients avec phyma important non enflammé.³¹⁴

La rosacée neurogénique est traitée par neuroleptiques (ex : pregabaline),⁴⁵⁸ anti-dépresseurs tricycliques ou agissant sur la douleur.⁴⁵⁷

La rosacée fulminans doit se traiter rapidement et intensément par corticothérapie à la fois locale, pendant 7 à 10 jours, et orale (prednisolone 0,5-1,0 mg/kg. j pendant 10 à 14 jours (puis les doses sont diminuées progressivement)). Celle-ci sera relayée par l'isotrétinoïne à 0,2-0,5 mg/kg. j tant que l'inflammation persiste.³⁴⁷ La dapsons 100 mg/j a aussi été utilisée avec succès en relais pour parvenir à diminuer l'érythème intense persistant : son efficacité est attribuée à son action inhibitrice sur les neutrophiles.³⁴⁹ Elle a aussi été utilisée avec succès dans la rosacée granulomateuse.⁵¹⁰

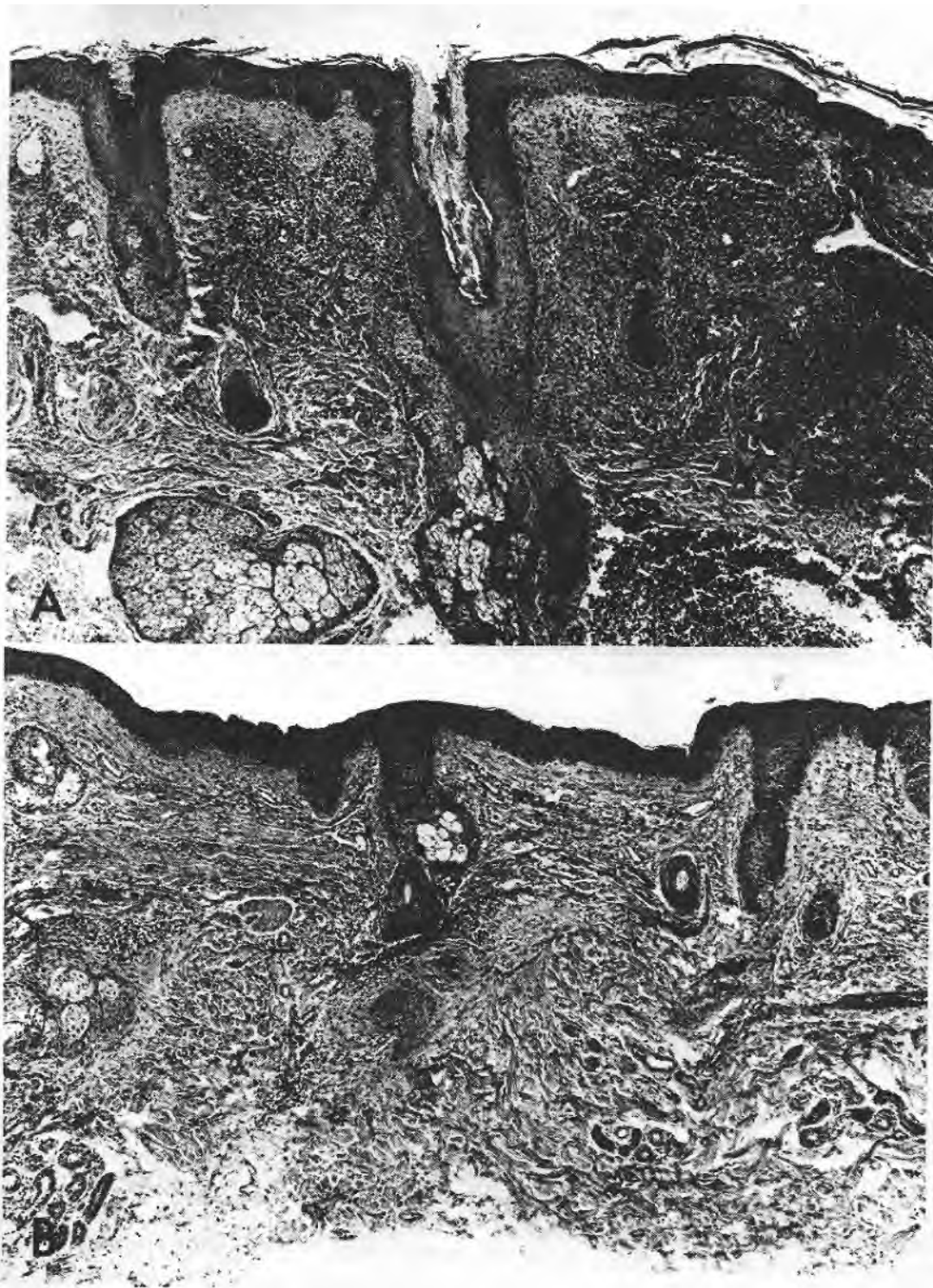


Fig. 65. Effets de l'isotrétinoïne dans la rosacée : biopsies faites au niveau du front (A) avant, et (B) après, 3 mois de traitement avec isotrétinoïne 0,5 mg/kg. j (30 mg/j pour un individu de 60 kg). On constate la diminution importante des vaisseaux anfractueux, de l'infiltrat périvasculaire, de l'œdème, de la parakératose (coloration Hematoxylin-eosin, x50). **Le follicule pilosébacé est atrophié dans sa totalité : non seulement les acini de la glande sébacée, mais aussi la longueur et la largeur du canal folliculaire,**⁵⁰⁵ avec disparition des Demodex.

Cette figure est reproduite depuis « Plewig G *et al.* Action of isotretinoin in acne rosacea and gram-negative folliculitis. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 766–785 ».

1.4.9.1. D. Traitements de la rosacée oculaire

La majorité des atteintes oculaires légères sont soignées par hygiène locale et larmes artificielles, application de compresses chaudes, massages des paupières pour vider les glandes de Meibomius,³²⁷ et éventuellement des applications locales de métronidazole ou d'acide fucidique.³⁰⁸ En cas d'atteinte oculaire plus sévère, la littérature mentionne l'application locale de cyclosporine, et la prise orale d'azithromycine ou de **doxycycline** (à libération modifiée à la dose de 40 mg /j, ou 100 mg/j)^{308,329} qui a remplacé la lymecycline 300 mg 1 X/j (2 X/j si intense) et la minocycline 50 mg/j (100 mg/j si intense).³⁰⁸ Kligman recommandait **l'isotrétinoïne à faible dose** (10 mg 3x/semaine) pour les cas résistants aux antibiotiques.⁵¹¹ Mais en cas d'atteinte inflammatoire sévère, il est bien sûr recommandé d'envoyer le patient chez l'ophtalmologue pour examen et prise en charge adéquate.

En tant que dermatologues, nous sommes confrontés essentiellement à des atteintes oculaires légères à modérées (blépharite, orgelets, chalazion). Personnellement, jusqu'il y a peu, nous utilisons avec succès un **gel d'acide fucidique** sur le bord libre des paupières après l'avoir nettoyé avec une compresse imbibée d'une solution nettoyante douce à usage ophtalmique. L'utilisation de l'acide fucidique se base sur une étude clinique de Seal *et al*, qui a montré que les patients avec blépharite répondaient différemment au traitement selon qu'une rosacée y était associée ou pas. Le traitement de la blépharite par l'acide fucidique donnait une amélioration dans 75% des cas si une rosacée cutanée était présente, et une aggravation dans 90% en cas d'absence de rosacée cutanée.⁵¹² Les auteurs attribuaient l'effet de l'acide fucidique à son action inhibitrice sur la prolifération des lymphocytes T.⁵¹²

Mais, au vu des récentes études utilisant le terpinène-4-ol dans les démodécies oculaires, nous avons remplacé cette habitude thérapeutique (nettoyage suivi de l'application d'acide fucidique) par le nettoyage simple avec les **compresses imbibées de terpinène-4-ol**, qui est plus simple d'utilisation et donne aussi d'excellents résultats (§ 1.3.7.2.).

1.4.9.2. Nouveau traitement topique

En décembre 2014 et mars 2015 respectivement, la FDA et l'EMA ont approuvé l'utilisation de l'ivermectine en topique à 1% pour traiter la RPP, à raison d'une application par jour.⁵¹³ Elle s'est avérée plus efficace que le véhicule⁵¹⁴ et que le métronidazole⁵¹⁵ sur les lésions cliniques de RPP. Elle est très bien tolérée (sur 52 semaines)⁵¹⁶ et contribue, mieux que le métronidazole, à augmenter la qualité de vie des patients.³⁶⁶

La sécurité de l'utilisation topique est également garantie par celle de son utilisation orale pour de nombreuses **parasitoses** : l'ivermectine a été utilisée par voie orale chez plus de 11 millions de personnes, depuis 30 ans, avec un bon profil de sécurité, même chez les femmes enceintes (qui ont reçu par inadvertance ce médicament lors de programmes de traitement de masse).⁵¹⁷ En effet, cette molécule inhibe la transmission neuro-musculaire des invertébrés, causant ainsi leur paralysie et leur mort;⁵¹⁸ elle a une forte affinité pour les canaux ioniques neuronaux et musculaires activés par le glutamate, propres aux invertébrés : en tant qu'agoniste elle augmente la perméabilité de ces membranes cellulaires aux ions chlorure, provoquant l'hyperpolarisation des cellules. Elle est aussi agoniste de l'acide gamma amino-butérique (GABA), un neurotransmetteur qui se retrouve, lui, également dans le SNC des mammifères ; mais comme l'ivermectine est une grosse molécule, elle est incapable de franchir la barrière hémato-encéphalique des mammifères et est donc sans danger pour eux. De plus, la concentration sanguine d'ivermectine lors d'une application topique est 160 fois moindre que lors d'un traitement per os.⁵¹⁷ Une résistance à l'ivermectine a été observée pour des nématodes d'animaux après 20 ans d'utilisation.⁵¹³

Comme ce traitement topique est efficace et très bien toléré, il apparaît aujourd'hui comme le **traitement de choix** pour traiter la RPP **légère à modérée (IGA1 et 2)** (tout comme l'acide azélaïque),^{308,314,339,396,397,519,520} et cela **sur le long terme**. En effet, il n'y a pas d'effet plateau : plus le traitement est long, meilleur est le résultat.⁵¹³ Une étude récente montre aussi une grande efficacité sur la rosacée **IGA3 et 4** en monothérapie,²⁹² mais confirme qu'en cas de rosacée sévère (IGA4), l'association avec la doxycycline à libération modifiée à la dose de 40 mg/j reste cependant conseillée,²⁹² car l'association de ces deux thérapeutiques, de par leurs actions complémentaires, donnent de meilleurs résultats cliniques et ce, plus rapidement, ce qui tendrait à augmenter l'adhérence des patients à leur traitement car ils peuvent rapidement voir le résultat.^{396,521}

Que ce soit avec l'ivermectine ou avec le métronidazole, le temps avant la récurrence est nettement plus long si le traitement est effectué **jusqu'à disparition complète des lésions** que s'il est arrêté au grade 1 (presque guéri), et les patients sont aussi plus satisfaits (presque deux fois plus de patients estiment avoir eu une excellente amélioration).³⁶³

L'action de l'ivermectine dans la rosacée est essentiellement attribuée à ses **propriétés anti-inflammatoires**, bien que certains auteurs l'attribuent également, en partie, à son **action acaricide**.^{290-292,396,397,513,522-525} En effet, en 2016, Ruini *et al* ont montré son effet délétère sur les Demodex par microscopie confocale⁵²⁵ et, en 2017, Schaller *et al* ont montré que la densité moyenne en Demodex diminuait de façon

spectaculaire après 6 semaines de traitement.²⁹⁰ Cette action acaricide a encore été confirmée par des études récentes^{291,292} et est facilement constatée tous les jours dans notre pratique clinique grâce à nos biopsies de surfaces. Un rebond des symptômes est parfois observé au début du traitement : il faut prévenir le patient, afin qu'il ne se décourage pas, mais au contraire persévère dans le traitement, quitte à l'arrêter transitoirement quelques jours puis à le reprendre. En effet, il est probable que cette aggravation transitoire soit due à la mort simultanée d'un grand nombre d'acariens au début de traitement, libérant subitement une grande quantité d'antigènes qui stimulent la réaction inflammatoire, comme cela a déjà été observé avec d'autres traitements,^{280,286} dont la lumière pulsée.⁴⁷¹

Galderma, la firme qui a mis l'ivermectine topique (Soolantra®) sur le marché, connaissait probablement son action acaricide sur le Demodex, car : (1) cette molécule est apparentée aux avermectines, qui sont utilisées comme insecticides à usage domestique (anti-fourmis) ; (2) elle est utilisée largement pour lutter contre diverses parasitoses tropicales et également contre la gale⁵¹⁸ (3) De plus, de rares publications avaient déjà montré une baisse significative de la population des Demodex suite à un traitement per os (200 µg/kg 2x à une semaine d'intervalle) dans les cils épilés en 2011,²⁹⁴ et dans la peau et les cils en 2013.²⁸⁵ Mais, étonnamment, **l'ivermectine topique n'a pas été présentée comme acaricide local, mais bien, et uniquement, comme anti-inflammatoire.** Et, encore en 2019, bien que son action acaricide sur le Demodex ait été démontrée et soit de plus en plus évoquée,^{290-292,396,397,513,522-525} ce traitement est présenté comme visant l'inflammation,³⁹⁶ présentée elle-même comme étant la cause de la rosacée : « With regard to rosacea, especially in the presence of papulopustular lesions, the anti-inflammatory properties of ivermectin that appear to correlate with rosacea pathophysiology are of specific investigative interest. The reduction of Demodex mite proliferation, which appears to have a role as a trigger factor in a subgroup of patients with rosacea, is another targeted area of research». ⁴¹⁹

1.4.9.3. Résumé des recommandations actuelles & cibles thérapeutiques

Les recommandations actuelles se font en relation avec la nouvelle nosologie de la rosacée suivant les phénotypes et sur base d'une méta-analyse, suivant les critères de l'Evidence-Based Medicine (EBM), médecine basée sur les preuves (Tableau 6).^{526,527} Si l'on rassemble les recommandations diverses, nous pouvons résumer qu'il est recommandé de commencer par traiter les lésions inflammatoires (ce qui équivaut, pour certains, à tuer les Demodex)⁴⁷¹ jusqu'à disparition complète des lésions³⁶³ et, ensuite seulement, de traiter les lésions vasculaires résiduelles si nécessaire ; et là aussi, il convient d'utiliser d'abord le laser ou l'IPL, et ensuite seulement, si le laser ne donne pas pleinement satisfaction, un vasoconstricteur.⁴¹⁹

Tableau 6. Recommandations thérapeutiques actuelles selon les phénotypes, en fonction des différents signes diagnostiques et majeurs de rosacée.

Ce tableau est reproduit depuis « Cribier B. Rosacée : nouveautés pour une meilleure prise en charge. Ann Dermatol Venereol. 2017; 144 (8-9): 508-7».314

Il a été récemment montré que les traitements usuels de la rosacée agissaient sur l'immunité innée,⁴²⁸ notamment la doxycycline,^{497,528,529} mais aussi

l'acide azélaïque⁴⁸⁹ et l'ivermectine topique⁵³⁰ (Fig. 66). La rosacée étant actuellement considérée comme une maladie inflammatoire, la recherche s'oriente en partie à développer d'autres traitements ciblant l'immunité innée.⁵³¹

Bouffées vasomotrices	Alphabloquant topique (surtout brimonidine) ; bêtabloquants (principalement le carvedilol)
Érythème centrofacial persistant	Brimonidine ; lasers et lumière intense pulsée
Lésions papulopustuleuses	Atteinte mineure : acide azélaïque – ivermectine topique – métronidazole topique – doxycycline Atteinte modérée : acide azélaïque – ivermectine – métronidazole – doxycycline Atteinte sévère : ivermectine topique – doxycycline – isotrétinoïne orale
Télangiectasies	Électrocoagulation ; lumière intense pulsée ; lasers
Phymas	Avec inflammation clinique : doxycycline ou isotrétinoïne Sans inflammation : modalités physiques (chirurgie, laser CO ₂ , cryochirurgie)

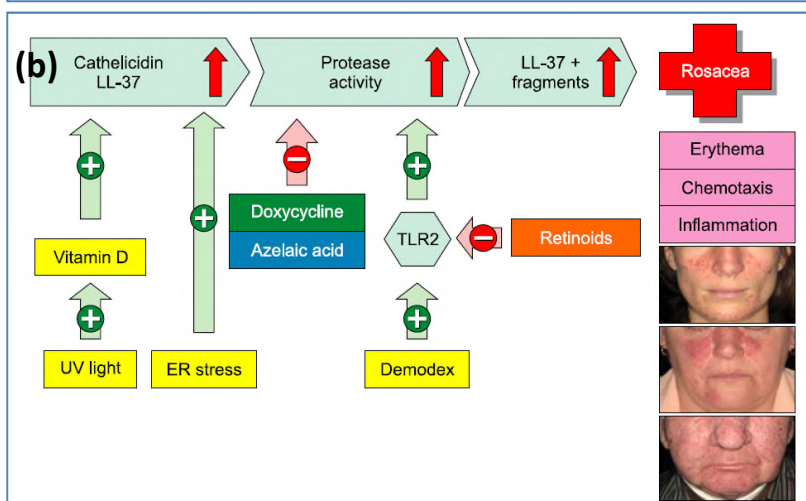
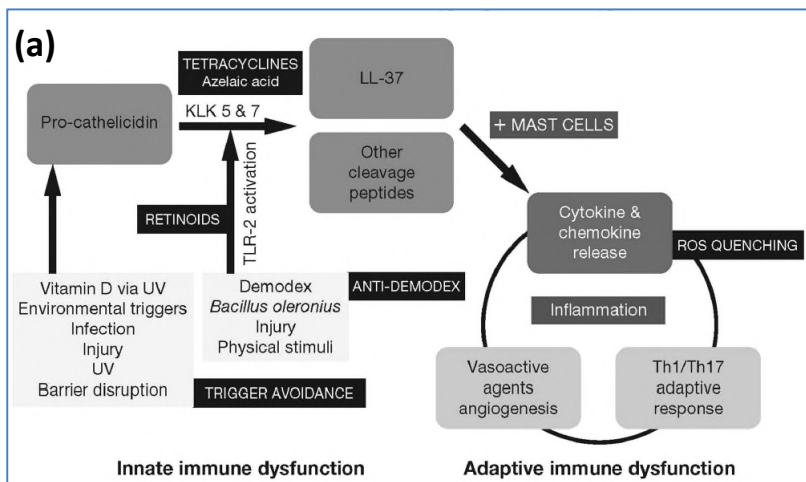


Fig. 66. Les cibles thérapeutiques actuelles dans la rosacée :

(a) Toutes les cibles.

Cette figure est reproduite depuis « Picardo M *et al.* Acne and Rosacea. Dermatol Ther 2017; 7: 43-5 ».532

(b) Les cibles immunitaires :

la doxycycline, l'acide azélaïque et les rétinoïdes interfèrent probablement à différents niveaux de la chaîne pro-inflammatoire.

Abréviations : UV : ultraviolet, ER : réticulum endoplasmique, TLR : récepteur de type toll. Cette figure est reproduite depuis «Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-

37 : An Antimicrobial Peptide with a Role in Inflammatory Skin Disease. Ann Dermatol 2012; 24: 126-135».428

1.5. Problèmes résiduels avant la thèse

En 1986, exception faite de quelques médecins, dont certains sont évoqués dans le préambule, le Demodex n'intéresse personne : le sujet est totalement négligé, le diagnostic de démodécie n'est que très exceptionnellement évoqué, car il est à priori considéré comme rare et reste toujours douteux car le rôle pathogène du Demodex n'est pas du tout établi, ni même sa prolifération en cas de RPP. Il n'y a aucun outil diagnostic de quantification objective, ni aucun traitement recommandé pour l'éliminer.

En 2012, plusieurs problèmes persistent :

- 1) **Le rôle central du Demodex** dans la RPP n'est pas accepté par l'opinion internationale (§ 1.4.8.4. A.) ; au mieux, il est considéré comme facteur aggravant potentiel d'une inflammation préexistante ;^{230,387}
- 2) Les différents **facteurs favorisant sa prolifération** ne sont que peu connus (§ 1.3.4.) ;
- 3) Il n'existe **pas de test diagnostic** validé pour confirmer le diagnostic de rosacée.³⁰⁹ La simple SSSB, proposée en 1993, est peu sensible et n'est utilisée que pour confirmer le diagnostic de démodécie. Et les dermatologues hésitent à faire une biopsie classique car celle-ci est invasive et laisse une cicatrice ;
- 4) Le **traitement de la rosacée** est donc uniquement symptomatique, anti-inflammatoire ;
- 5) La **démodécie pseudo-rosacée** et la RPP sont considérées comme des entités différentes, bien que la distinction entre elles ne soit pas claire, et les patients avec **papulopustules sans érythème** sont dans un no man's land nosologique (§ 1.4.3.).
- 6) **Les démodécies restent mal diagnostiquées par les dermatologues**,^{2,126-129} en particulier la forme la plus discrète (le pityriasis folliculorum). Dans notre étude de 2005, 44 % des démodécies (51/115) n'auraient pas été diagnostiquées si les neuf autres dermatologues participants n'avaient pas été sensibilisés au diagnostic¹²⁶ et ceci est probablement encore sous-évalué vu que, volontaires pour participer à l'étude, ces dermatologues étaient déjà, plus que la moyenne, sensibilisés au diagnostic. Or, le pityriasis folliculorum est une dermatose plus fréquente que la RPP :¹²⁶ cela signifie que les erreurs de diagnostic sont extrêmement fréquentes.

Cette carence de diagnostic des démodécies est probablement à la base de tous les autres problèmes, malentendus, ambiguïtés et controverses. Elle est due au fait que les dermatologues ne sont pas habitués à détecter les squames folliculaires (§ Préambule et 1.3.1.1.), ils n'ont pas appris à les détecter, ne les voient apparemment pas ou/et n'y attachent aucune importance. De ce fait, s'il n'y a pas d'érythème, **en lieu et place du pityriasis folliculorum**, ils posent le diagnostic de

« **peau saine** » ou « **peau sèche** », tandis qu'en cas d'érythème et de télangiectasies, ils posent le diagnostic de « **RET** ». En effet, en cas d'érythème, le diagnostic de RET saute aux yeux, **passivement**, il est évident, il « vient à nous » (Fig. 67), tandis que le diagnostic de pityriasis folliculorum, lui, demande une démarche active du dermatologue. Il doit détacher son regard des anomalies vasculaires évidentes, qu'il a pris l'habitude de voir, et aller **activement** à la recherche **des minuscules squames folliculaires** par un examen clinique minutieux, en réglant sa profondeur de champ sur quelque chose de plus superficiel. Comme expliqué plus haut, nous avons nous-même mis plusieurs années pour les « voir » alors qu'elles étaient sous nos yeux (§ 1.3.1.1.).

Et, en 2018, ce problème persiste, comme le montre le choix de la photo qu'ont fait sept experts internationaux pour illustrer l'érythème permanent de la rosacée dans le cadre du dernier consensus nosologique de la rosacée.¹⁵² Vu le contexte, cette photo aurait dû être dépourvue de toute ambiguïté ; or, elle ne l'est pas, car elle pourrait très bien correspondre à un pityriasis folliculorum (Fig. 67).

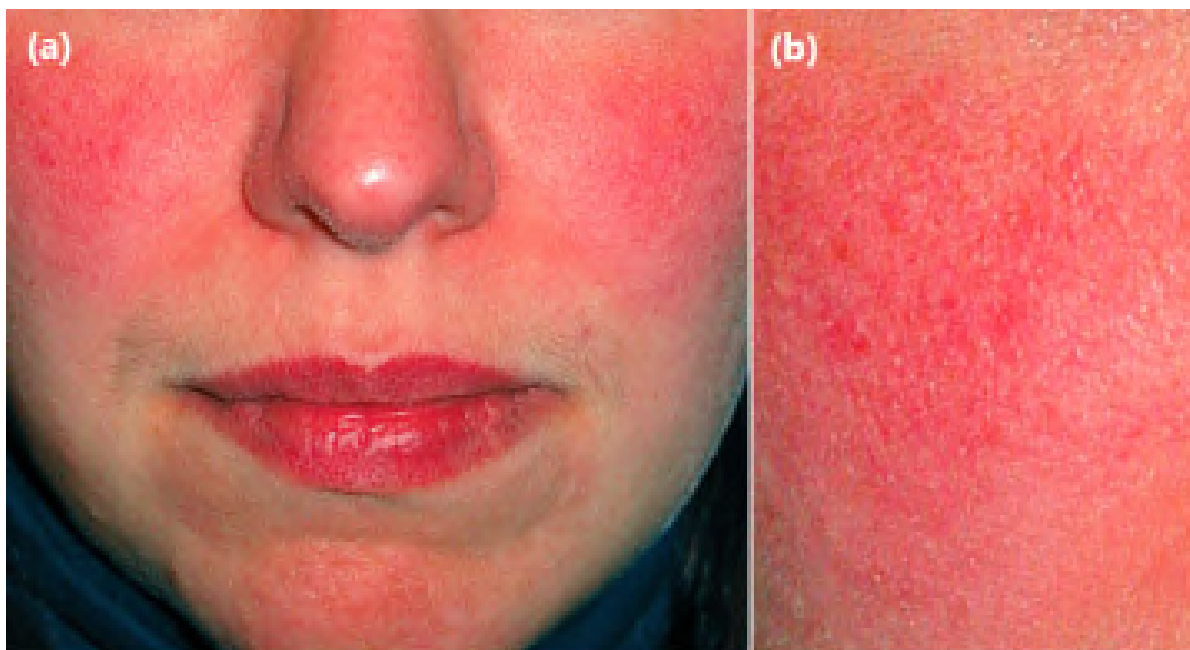


Fig. 67. Confusion diagnostique entre la RET et le pityriasis folliculorum.

La partie (a) est la **photographie choisie par les sept experts internationaux**, pour illustrer l'érythème permanent de la rosacée sur une peau claire, critère majeur proposé dans leur dernière mise à jour nosologique de la rosacée en 2017 (publiée en 2018). Les squames folliculaires, encore mieux visibles sur le zoom de la joue droite que nous avons réalisé (b), sont négligées. Or, elles sont très suggestives de pityriasis folliculorum, et requièrent une SSSB pour confirmer la haute Dd.

Cette figure est reproduite depuis « Gallo RL *et al.* Standard classification and pathophysiology of rosacea: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; 78: 148–15".¹⁵²

Bien sûr, rien ne peut être affirmé sans avoir confirmé la haute densité en Demodex de la patiente photographiée, mais les experts auraient pu choisir une photo qui ne prête pas à confusion, sans squames folliculaires, et... ils ne l'ont pas fait. Ceci montre que, même à ce haut niveau d'expertise, les dermatologues ne tiennent pas compte de ces squames folliculaires pour leur diagnostic de rosacée ; d'ailleurs, ils n'en parlent pas en tant que diagnostic différentiel. **Autrement dit, du point de vue des autorités dermatologiques, ces squames folliculaires peuvent apparemment être présentes pour poser le diagnostic de rosacée.**

D'autres auteurs visualisent les écailles folliculaires mais les associent simplement à un aspect sec, squameux de la peau;^{56,240,388} ainsi, Sibenge *et al* distinguent deux sous-types, squameux et non squameux, de RET, spécifiant que seul le premier sous-type est associé à l'infection par le Demodex.⁵⁶ En fait, il s'agit du pityriasis folliculorum. D'autres enfin spécifient même que cet aspect sec et rugueux est un aspect généralement rencontré dans la RET avec possibilité de fines écailles folliculaire.⁵³³

Toutes ces données portent à penser que, **pour l'opinion dominante, le pityriasis folliculorum fait partie intégrante de la RET, mais de façon inconsciente**, et illustre magistralement l'absence de sensibilisation au diagnostic de démodécie, et donc le fait que les démodécies sont sous-diagnostiquées et s'infiltrent probablement dans beaucoup d'études cliniques sans que les auteurs en aient conscience (§ 4.2.6.).

Ce **problème majeur de diagnostic et de nosologie**, concernant le pityriasis folliculorum est à la base de beaucoup de malentendus, car, personnellement, nous posons le diagnostic de RET quand aucun signe de démodécie n'est associé à l'érythème persistant, en particulier, quand il n'y a pas de squames folliculaires visibles (§ 4.2.6.).

2) OBJECTIFS DE LA THÈSE

La thèse a deux objectifs principaux, l'un théorique, l'autre pratique, qui sont indissociables.

L'objectif théorique s'intéresse au rôle pathogène du Demodex en général et dans la rosacée en particulier : il s'agit d'apporter des arguments afin de faire reconnaître que la RPP est provoquée par la prolifération anormale de *D folliculorum*, ce qui revient à dire que la RPP est une démodécie.

L'objectif pratique est d'améliorer la prise en charge des patients atteints de RPP et de démodécie, en montrant aux dermatologues l'importance qu'y occupe le parasite et en facilitant leur travail au quotidien. Nous voulons les aider à diagnostiquer cette/ces maladies, en mettant en lumière leurs signes cliniques parfois discrets et en leur fournissant un test diagnostique simple praticable en consultation. De plus, nous voulons aussi leur proposer un traitement efficace et bon marché pour traiter cette/ces maladies.

Par ailleurs, nous voulons explorer les facteurs favorisants potentiels de la prolifération en Demodex.

3) ETUDES PRÉLIMINAIRES ET MÉTHODOLOGIQUES, COMMENTAIRES CONNEXES

3.1. 1986 : Demodex & inflammation périfolliculaire⁷⁵

Dans les années 80, en Belgique, et probablement ailleurs également, on ne parlait pas du Demodex, même aux étudiants en médecine. Le diagnostic de démodécie n'était quasi jamais posé (§ Preamble).⁵⁹

Alors que nous étions en 5^e année de médecine, le professeur Bourlond se posait néanmoins la question de **savoir si le parasite causait ou non une inflammation périfolliculaire**. A l'époque, il a mis à notre disposition les 69 lames histologiques dans lesquelles il avait relevé la présence du parasite au cours de sa carrière afin d'essayer de répondre à cette question.

DÉMODEX ET INFLAMMATION PÉRIFOLLICULAIRE CHEZ L'HOMME :

Revue et observation de 69 biopsies

F. FORTON

RÉSUMÉ

Une brève revue de la littérature concernant le démodex est effectuée sur le plan parasitologique et médical.

L'analyse de 69 biopsies cutanées suggère que les *Demodex folliculorum* et *brevis* induisent une inflammation lymphohistiocytaire périfolliculaire, qui agresse la paroi du follicule indépendamment du nombre de parasites présents.

Une observation isolée suggère que les démodex intradermiques extrafolliculaires ont pénétré dans le derme suite à un tropisme qui leur est propre et non pas nécessairement à la faveur d'une inflammation de la paroi.

(See summary on p. 1057).

INTRODUCTION

Le démodex est un petit acarien parasite obligé des follicules pilosébacés des mammifères (11, 16, 29).

Sa présence est habituellement asymptomatique mais elle peut cependant entraîner des éruptions, soit érythémato-squameuses soit pustuleuses (16).

Chez l'homme, son rôle est principalement incriminé dans l'histogénèse de certaines formes de rosacée (2, 8, 18, 22).

I — LE DÉMODEX

(Du grec : Demos = graisse; dex = vers) (35).

Le démodex a été observé pour la première fois en

Service de Dermatologie (Pr A. BOURLOND), Faculté de Médecine, Université catholique de Louvain, avenue Hippocrate 10, B-1200 Bruxelles.

Reçu le : 20 janvier 1986; acceptation définitive le : 20 juin 1986.

Tirés à part : F. FORTON, à l'adresse ci-dessus.

1841 par Henle et Berger et décrit scientifiquement par Simon en 1842 (27).

Il a un corps vermiforme transparent (6) de 0,15 à 0,35 mm de long et de 0,04 à 0,05 mm de large (27) (fig. 1).

Il est composé d'une partie antérieure, le *prosoma* ou céphalothorax, et d'une partie postérieure, l'*opisthosoma* ou abdomen. Le *prosoma* est composé du *gnathosoma* qui porte les parties buccales (bouche, stylets, pédipalpes) et du *podosome* qui porte les quatre paires de palpes moteurs ou pattes (11, 31). L'*opisthosoma* constitue les 2/3 de la longueur totale du démodex et est annelé sur toute sa longueur (11).

In vivo, le démodex s'oriente parallèlement à l'axe du poil, le *gnathosoma* vers le bulbe (6).

Il se nourrit de cellules folliculaires et sébacées de l'hôte (27).

Il ne possède ni anus, ni appareil excréteur; il semble que ses déchets soient stockés sous forme de grains dans les cellules type I du tube digestif, situées à la partie antérieure de l'*opisthosoma*; ces grains apparaissent bruns, non colorés par l'hématoxyline éosine (11).

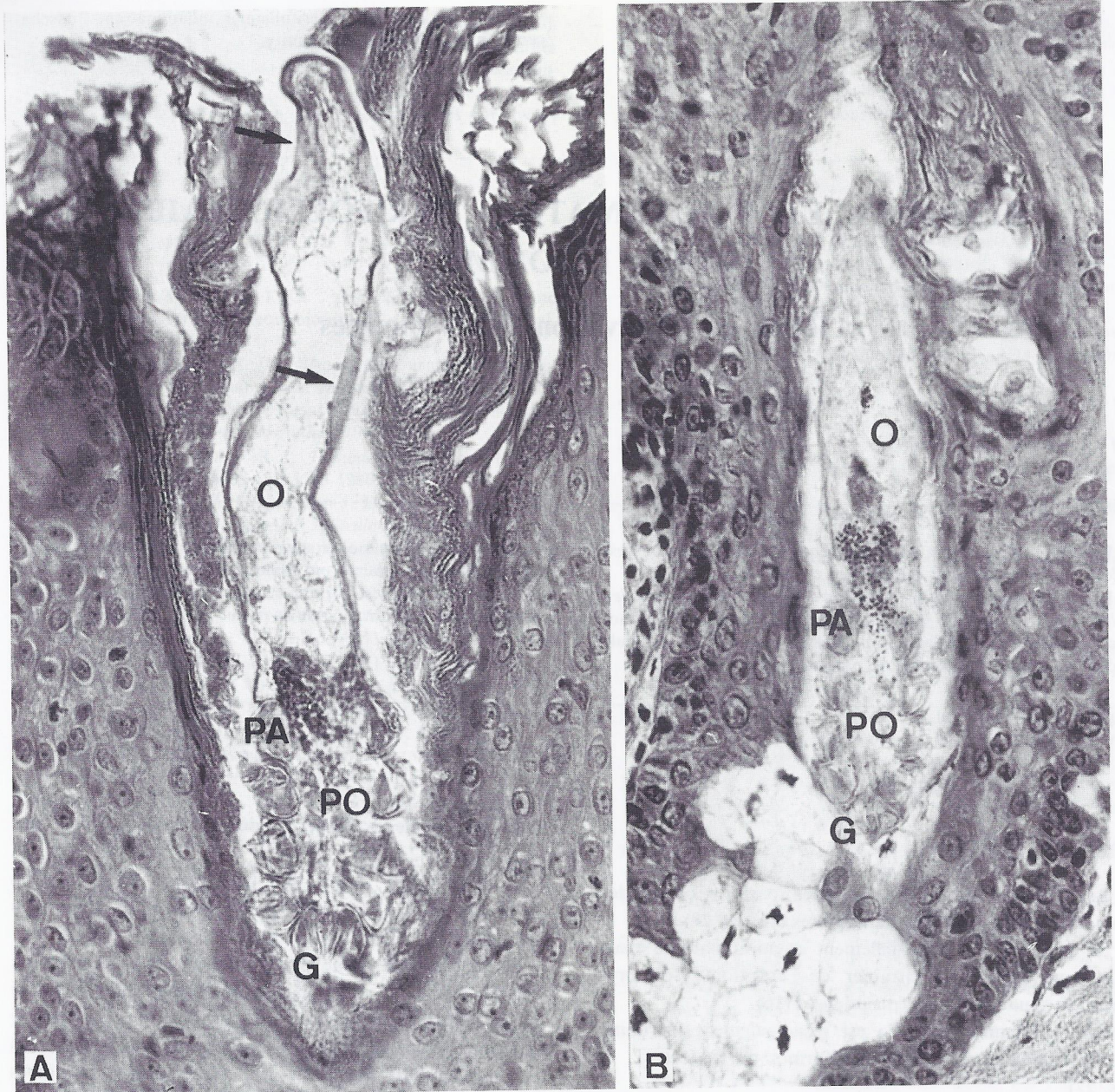


FIG. 1. — A) *Demodex folliculorum* dans un canal pilosébacé ($\times 475$) (hémalun-éosine-safran).
B) *Demodex brevis* dans un canal sébacé ($\times 475$) (hémalun-éosine-safran) (G = gnathosome; O = opisthosome; PA = 4^e palpe moteur gauche; PO = podosome; flèches = striations de l'opisthosome).

A) *Demodex folliculorum* in the upper part of the follicle ($\times 475$) (hemalun-eosine-saffron).

B) *Demodex brevis* in the sebaceous duct ($\times 475$) (hemalun-eosine-saffron) (G = gnathosome; O = opisthosome; PA = fourth motor palpe; PO = podosome; arrows: striations of the opisthosome).

Le cycle vital est d'environ 15 jours (40). Certaines survies plus longues ont cependant été observées *in vitro*, jusqu'à 25 jours (17).

La femelle est fécondée à l'ostium folliculaire et ensuite, descend profondément dans le follicule pour y pondre un œuf; celui-ci y évolue en larve, en protonympe et de

là en deutonymphe; celle-ci sort du follicule, circule à la surface de la peau, entre dans un autre follicule et y évolue en adulte (40).

Sur le plan taxonomique, le genre *Demodex* fait partie de l'embranchement des arthropodes, du sous-embranchement des trachéiatiés, de la classe des arachnides, de l'ordre des acaréens, de sous-groupe des trombidiformes ou prostigmatés, de la famille des *demodecidae* (35, 41).

A l'heure actuelle, 65 espèces différentes de démodex ont été décrites (28, 29), chaque espèce étant spécifique de l'hôte parasité (26).

Deux espèces se retrouvent chez l'homme (*fig. 1*) : le *D. folliculorum*, forme longue qui vit dans le canal pilosébacé, et le *D. brevis*, forme courte qui vit dans la glande sébacée (27) et dans la glande de Meibomius (15); elles doivent être distinguées obligatoirement, d'après certains auteurs (1, 27), dans toute étude sur le pouvoir pathogène du parasite. Cette distinction se fait sur base de critères très précis (10, 27) qui requièrent, en histologie, des coupes sériées (par exemple 6 coupes à 8-10 μ) pour chaque démodex, afin de reconstituer les structures et dimensions de celui-ci (27); en effet, rares sont les spécimens coupés tout à fait longitudinalement.

Seule la situation dans la glande sébacée permet d'affirmer *a priori* qu'il s'agit d'un *D. brevis* (27).

II — LE DEMODEX CHEZ L'HOMME

1 — ÉPIDÉMIOLOGIE

Les deux espèces de démodex de l'homme contaminent autant (17, 23) ou plus (1) l'homme que la femme, selon les auteurs; la proportion d'individus contaminés augmente avec l'âge (1, 12, 17, 23, 24) et la fiabilité de la méthode : certains auteurs, usant de techniques non invasives, peuvent rechercher le démodex sur une plus grande surface et obtiennent alors une prévalence de 100 p. 100 (12, 17, 23). On pourrait donc affirmer que le démodex se trouve *chez tous les individus* (28) à partir de 10 ans (12) et ce, en nombre d'autant plus élevé que l'individu avance en âge.

Sur un même individu, le démodex se concentre surtout dans les régions séborrhéiques (17) : à savoir, la face pour le *D. folliculorum*, le cou et la poitrine pour le *D. brevis* (1).

A l'échelle folliculaire, les démodex se retrouvent non seulement dans le follicule pilosébacé, mais aussi sur la surface de la peau (23, 24) et exceptionnellement, en pathologie, dans le derme (1, 13, 18).

2 — RÔLE PATHOGÈNE

Au départ, le démodex a été impliqué dans la pathogénie de nombreuses maladies, parce que présent près de la

lésion ou à l'intérieur de celle-ci : on ignorait qu'il était présent chez tous les individus.

Actuellement, seules deux circonstances rendent le démodex suspect : d'une part, sa présence en *nombre* anormalement élevé dans les follicules, et, d'autre part, sa présence en un *endroit* inhabituel, en l'occurrence dans le derme.

Les lésions cliniques concernées sont :

- la dermatite péri-orale (DPO),
- la blépharite,
- le nodule inflammatoire,
- la rosacée et formes apparentées.

La DPO

Les cas de DPO « à démodex » rapportés dans la littérature (36) sont très peu concluants.

Les biopsies montrent qu'il n'y a pas de présence inhabituelle de démodex dans la DPO (21) et que les glandes et follicules infestés ne sont pas enflammés (33).

La blépharite

Le *D. folliculorum* est responsable de la formation d'un petit cylindre constitué de kératine et de lipides, qui engaine la base du cil (15) sans qu'il s'agisse d'un signe de blépharite (23).

Pendant, une étude montre une relation statistique positive entre la présence de démodex et de blépharite (32). D'autre part, plusieurs cas isolés sont rapportés où des lésions riches en démodex sont traitées avec succès par un acaricide (3, 32).

En pratique, il convient de rechercher la présence de démodex dans les blépharites résistant au traitement classique (14, 32).

Le nodule inflammatoire

Un petit nodule aspécifique, enflammé, isolé, peut correspondre à un granulome sur démodex intradermique (18).

La rosacée

Certains auteurs plaident contre le rôle du démodex dans l'histogénèse de la rosacée (20, 34). D'autres le considèrent comme un des facteurs de la rosacée (7, 9).

D'autres encore lui attribuent la responsabilité d'une des quatre formes de rosacée, la rosacée granulomateuse (18, 19).

D'autres enfin décrivent des entités cliniques isolées en rapport étroit avec la présence de démodex, qu'ils placent hors du concept classique de la rosacée. Ils les nomment alors « démodécies ». Ils distinguent :

a — La *démodicé mineure*, rosacée à démodex intra-folliculaires, constituée elle-même de deux entités :

. le *pityriasis folliculorum* (2) qui se distingue de la rosacée classique par :

- l'aspect sec, pityriasiforme de la peau,
- la présence de démodex en grand nombre dans les squames folliculaires (10 à 15 individus par follicule),
- le prurit,
- la guérison sous traitement acaricide.

. la *démodicé rosacéiforme* qui se caractérise par les mêmes symptômes que le *pityriasis folliculorum*, plus des vésiculo-pustulettes superficielles riches en démodex ou de petites papules ou papulo-pustules (2).

Ces papules sont moins profondes, moins volumineuses et moins inflammatoires que dans la rosacée classique (2, 3).

L'éruption décrite sur le crâne chauve comme étant caractéristique de l'infestation par démodex (22) peut entrer dans le cadre de cette description. Certains incluent dans cette entité la rosacée granulomateuse à démodex (4). Un auteur l'isole sous le nom de « *démodicé grave* » (8).

b — La *démodicé grave* (8), rosacée à démodex intra-dermiques, est en tous points semblable à la rosacée lupoiide, si ce n'est :

- la présence intradermique de démodex,
- la nécrose au centre des granulomes,
- le prurit,
- la guérison sous traitement acaricide.

Les rosacées à démodex ou *démodicés* se traitent de la façon suivante : le soir, après une toilette du visage à l'eau et au savon, appliquer un acaricide local en évitant les yeux ;

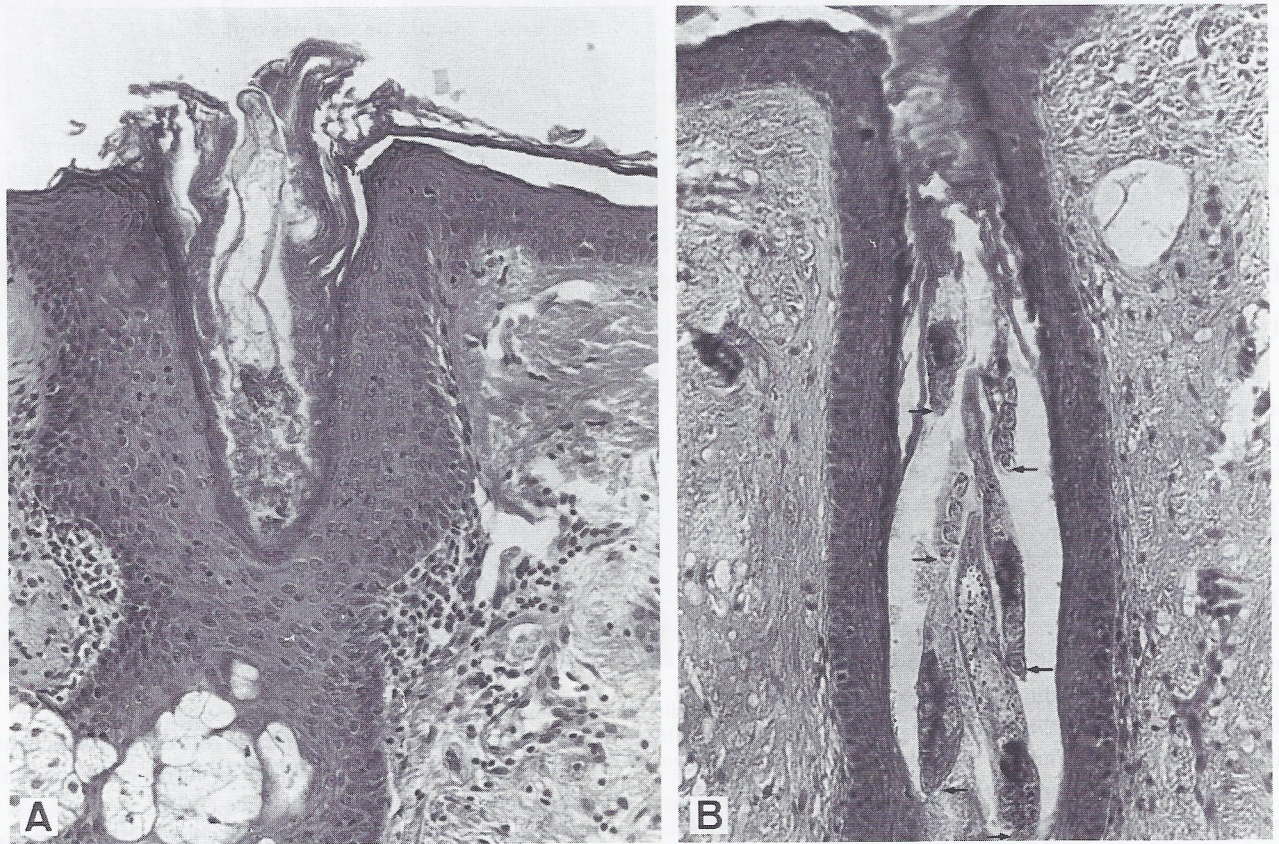


FIG. 2. — A) Lésions histologiques concomitantes à la présence de démodex : hyperkératose folliculaire, distension du canal et hyperplasie de la paroi folliculaire, infiltrat perifolliculaire lymphocytaire ($\times 200$) (hémalum-éosine-safran).

B) 6 démodex (flèches) dans un canal pilosébacé. Absence d'infiltrat perifolliculaire ($\times 200$) (hémalum-éosine-safran).

A) Typical appearance of Demodex within the ostium. There are superficial hyperkeratosis, slight hyperplasia of the follicular wall, lymphocytic infiltrate of the dermis ($\times 200$) (hemalun-eosine-saffron).

B) 6 Demodex (arrows) does not arouse any perifollicular inflammation ($\times 200$) (hemalun-eosine-saffron).

le matin, laver la face. Faire ceci pendant 3 jours de suite la première semaine. Par la suite, appliquer le produit 1 à 2 fois par semaine pendant 3 ou 4 semaines (2, 3, 4).

Les acaricides locaux recommandés sont :

- le benzoate de benzyle (2, 8, 32),
- les composés soufrés dont le shampooing au sulfure de sélénium (8) et le danish ointment qui représenterait la formule idéale (2, 3),
- le lindane à 1 p. 100 (2, 8),
- le crotamiton (2),
- pour les blépharites : onguent ophtalmique à l'oxyde jaune de mercure à 1 p. 100 (4).

3 — LÉSIONS HISTOLOGIQUES CONCOMITANTES A LA PRÉSENCE DE DÉMODEX

En ce qui concerne le *D. folliculorum* *intrafolliculaire* (fig. 2 A) :

- hyperkératose du follicule et de l'épiderme environnant (2, 6, 15),
- distension du follicule (1, 2, 6, 15),
- hyperplasie du follicule (15),
- destruction de l'épithélium folliculaire dont il se nourrit (27) (fig. 3),

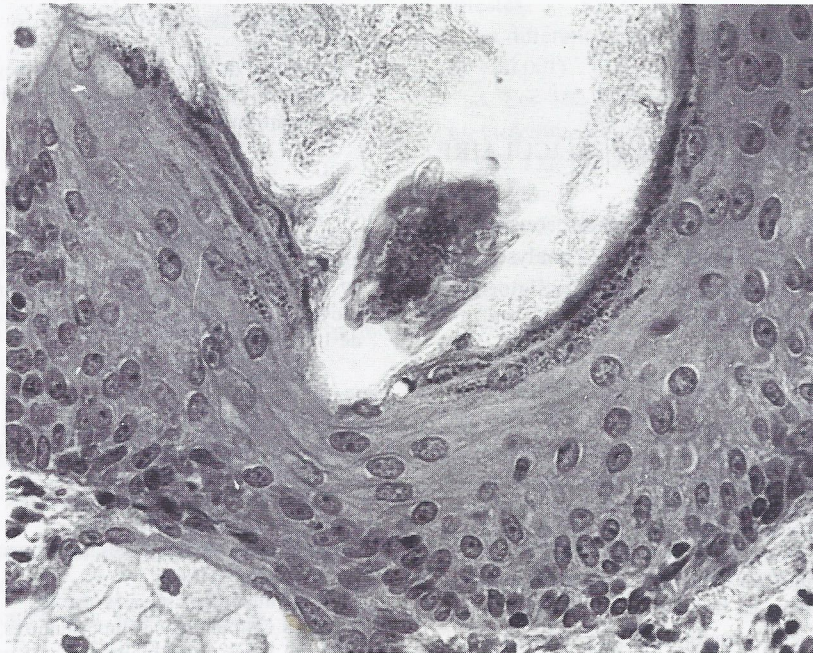


FIG. 3. — Prosome de démodex en coupe oblique dans un canal pilosébacé : à noter la rupture dans la couche granuleuse en face de l'acarien, qui signe ainsi son mode alimentaire (× 475) (hémalun-éosine-safran).

Prosome of Demodex is cut in oblique. The granular layer of the pilosebaceous duct is interrupted because the mite is grazing the epithelium (× 475) (hemalun-eosine-saffron).

- infiltrat lympho-histiocytaire périfolliculaire (1, 6, 35) à lymphocytes T helper (38),
- hyperpigmentation (suggérée par 2 et 23).

En ce qui concerne le *D. brevis* *intrafolliculaire* :

- dilatation du follicule (moins fréquente que pour le *D. folliculorum*) (1),
- destruction des cellules sébacées dont il se nourrit (15, 27).

En ce qui concerne le *démox* *intradermique*, extra-folliculaire :

- réaction granulomateuse à lymphocytes T helper (38) et à cellules géantes qui phagocytent le démodex (8, 13, 18),
- foyer de nécrose (8, 18).

4 — RÔLE DE L'IMMUNITÉ

a — L'intégrité du système immunitaire semble nécessaire pour contrôler la pullulation des démodex ; en effet :

— des lésions provoquées par l'emploi de corticoïdes locaux se sont révélées riches en démodex :

- 2 cas de DPO (30),
- 1 cas de rosacée stéroïdienne observée dans le Service de Dermatologie, Cliniques universitaires Saint-Luc,

— la prise prolongée de corticoïdes *per os* provoque une augmentation du nombre de démodex dans les follicules des cils (5), augmentation qui a pu également être observée sur une éruption eczématoïde de la face d'un patient sous corticoïdes (39).

b — L'immunité humorale semble stimulée par la présence de démodex; en effet :

— 22 p. 100 des patients atteints de rosacée papulopustuleuse et granulomateuse ont dans leur sérum des anticorps anti-*Demodex caprae*. Ces anticorps ressemblent aux anticorps produits par le lapin sensibilisé par des antigènes de *D. caprae* (19);

— des anticorps anti-démodex de l'homme ont été mis en évidence dans le sérum d'un patient atteint de rosacée. Ces anticorps sont de nature IgG (25).

c — L'immunité cellulaire semble stimulée par la présence de démodex; en effet :

— les démodex intradermiques donnent lieu à la formation de granulomes dont les lymphocytes sont, pour 95 p. 100, des lymphocytes T helper; ces mêmes lymphocytes constituent l'infiltrat périfolliculaire dans la rosacée (38),

— l'intensité de l'infiltrat périfolliculaire est plus prononcée autour des follicules qui contiennent des démodex (38).

III — LE DÉMODEX ET L'INFLAMMATION PÉRIFOLLICULAIRE

La composante originale de cette étude consiste en l'observation de coupes histologiques et en l'analyse de la relation entre la présence de démodex et le développement de l'inflammation périfolliculaire.

I — MATÉRIEL ET MÉTHODES

A — Soixante-neuf biopsies ont été retenues sur la base du critère qui est de contenir au minimum 3 démodex par biopsie*.

En moyenne, 9 coupes sont examinées par biopsie (extrêmes : 1-23); les coupes sont colorées à l'hémalum-éosine-safran. Dans 15 cas, des coupes sont colorées aussi au PAS.

Les informations obtenues des différentes coupes d'une même biopsie sont rassemblées dans un tableau.

* Laboratoire de Dermatologie, Cliniques universitaires Saint-Luc, P^r BOURLOND, 1963-1985.

Laboratoire d'Histopathologie cutanée, Namur, D^r BOURLOND-REINERT, 1978-1984.

Pour chaque biopsie, sont relevés :

- l'âge et le sexe,
- le diagnostic,
- le nombre de coupes observées,
- le nombre de démodex :

- . total,
- . dans les glandes sébacées,
- . dans les follicules,
- . en surface,
- . dans le derme.

— le nombre de follicules :

- . total,
- . enflammés et infestés,
- . enflammés non infestés,
- . infestés non enflammés,
- . ni infestés ni enflammés.

. Parmi les follicules *enflammés et infestés* sont notés :

- le nombre de follicules envahis par un infiltrat agressif,
- le nombre de démodex dans les follicules avec infiltrat agressif,
- le nombre de démodex dans les follicules avec infiltrat non agressif,

. Parmi les follicules *enflammés non infestés* est précisé le nombre de follicules envahis par un infiltrat agressif.

. Parmi les follicules *infestés non enflammés* est relevé le nombre de démodex par follicule.

Du point de vue statistique, les règles de comparaison entre distributions normales ont pu être utilisées, vu la taille suffisante des échantillons.

B — Ces biopsies se répartissent :

— entre 26 femmes et 43 hommes, dont l'âge moyen est de 49 ans pour les femmes (seulement 21 d'âge connu), et de 57 ans pour les hommes (seulement 36 d'âge connu). L'âge moyen, pour l'ensemble des cas, est de 55 ans avec des extrêmes de 13 et 92 ans;

— suivant le diagnostic :

- . 17 rosacées,
- . 12 naevus naevocellulaires dermiques,
- . 9 kératoses séniles,
- . 7 épithéliomas basocellulaires,
- . 4 naevus sébacés,
- . 4 démodécies pures (cliniquement : nodules inflammatoires isolés),
- . 3 adénomes sébacés séniles,
- . 3 épithéliomas spinocellulaires,
- . 2 lupus érythémateux chroniques,
- . 2 angiomes (1 mixte et 1 capillaire),
- . 2 verrues séborrhéiques,
- . 10 autres diagnostics.

A noter que se rencontrent 6 biopsies à diagnostic double.

2 — CRITÈRES

1 — Un follicule est considéré comme *présent* si la lumière du canal pilosébacé est visible dans au moins une des coupes ou si la glande sébacée offre une tranche de section légèrement plus grande qu'un démodex en coupe transversale. Ne sont ainsi pris en ligne de compte que les follicules susceptibles de montrer l'absence ou la présence de démodex.

2 — Un follicule est dit *enflammé* si l'infiltrat à son voisinage est plus abondant que dans le derme entre les follicules.

3 — L'*infiltrat* est dit *agressif* lorsque trois conditions sont remplies simultanément :

a — Une irrégularité de la couche basale de l'épithélium folliculaire qui rend imprécise la limite derme-paroi folliculaire, ou une rupture de la membrane basale au PAS.

b — Un infiltrat périfolliculaire au même niveau.

c — Un infiltrat inflammatoire dans la paroi folliculaire au même niveau.

4 — Le follicule est dit *infesté* quand un démodex au moins est retrouvé dans sa lumière ou sa glande sébacée.

5 — La *présence de démodex* n'est affirmée que par l'identification d'une structure indiscutable du parasite, à savoir : un gnathosome, une patte, des striations d'opisthosome, un sac éosinophile rempli de grains réfringents ou de cellules type II du tube digestif.

Ne sont pas considérés comme structure indiscutable : des grains isolés, des amas plus ou moins allongés de matériel basophile.

6 — En cas d'hésitation, le résultat est considéré comme négatif.

7 — Lorsque diverses coupes d'une même biopsie ne sont pas superposables, le groupe de coupes retenu est celui qui révèle le plus de démodex.

3 — RÉSULTATS (tableau I)

A. 1. Sur 986 démodex observés, 732 (74 p. 100) sont situés dans le canal folliculaire, 207 (21 p. 100) dans la glande sébacée, 46 (5 p. 100) en surface et 1 seul (1 p. 1000) dans le derme (fig. 4 A).

2. Il y a, en moyenne, 3,3 démodex par follicule pilosébacé infesté (extrêmes : de 1 à 13) (fig. 2 B).

3. Les démodex intraglandulaires ne se retrouvent que dans 31 des 69 cas : ils sont en grand nombre (≥ 5 par biopsie) dans 16 cas sur 31 (176 des 207 démodex intraglandulaires, soit 85 p. 100).

B. 1. a. Parmi les 284 follicules infestés par démodex, 57 p. 100 sont enflammés.

Parmi les 426 follicules non infestés, 29 p. 100 sont enflammés.

La différence entre ces deux pourcentages est significative ($p < 0,001$).

b. Parmi les 287 follicules enflammés, 56 p. 100 sont infestés.

TABLEAU I. — Résultats chiffrés des observations.

Calculated data.

Coupes observées	622
Démodex :	
nombre total	986
dans le canal folliculaire	732
dans la glande sébacée	207
en surface	46
dans le derme	1
Follicules :	
nombre total	710
enflammés et infestés	162
enflammés non infestés	125
infestés non enflammés	122
ni enflammés ni infestés	301
Parmi les follicules enflammés et infestés :	
follicules envahis par un infiltrat agressif	83
démodex dans les follicules à infiltrat agressif	311
démodex dans les follicules à infiltrat non agressif	282
Parmi les follicules enflammés non infestés :	
follicules envahis par un infiltrat agressif	37
Parmi les follicules infestés non enflammés :	
démodex	346

Parmi les 423 follicules non enflammés, 29 p. 100 sont infestés.

La différence entre ces deux pourcentages est significative ($p < 0,001$).

2. Les 162 follicules infestés et enflammés contiennent en moyenne 3,7 démodex par follicule.

Les 122 follicules infestés non enflammés en contiennent 2,8.

Cette différence est significative ($p < 0,001$).

3. a. Parmi les 162 follicules enflammés et infestés, 51 p. 100 montrent une inflammation agressive.

Parmi les 125 follicules enflammés non infestés, 30 p. 100 montrent une inflammation agressive.

La différence entre ces deux pourcentages est significative ($p < 0,001$).

b. Parmi les 120 follicules avec inflammation agressive, 69 p. 100 sont infestés par démodex.

Parmi les 167 follicules avec inflammation non agressive, 47 p. 100 sont infestés.

La différence entre ces deux pourcentages est significative ($p < 0,001$).

4. Les 83 follicules infestés avec une inflammation agressive contiennent, en moyenne, 3,7 démodex par follicule.

Les 79 follicules infestés avec un infiltrat non agressif en contiennent, en moyenne, 3,6.

Cette différence n'est pas significative.

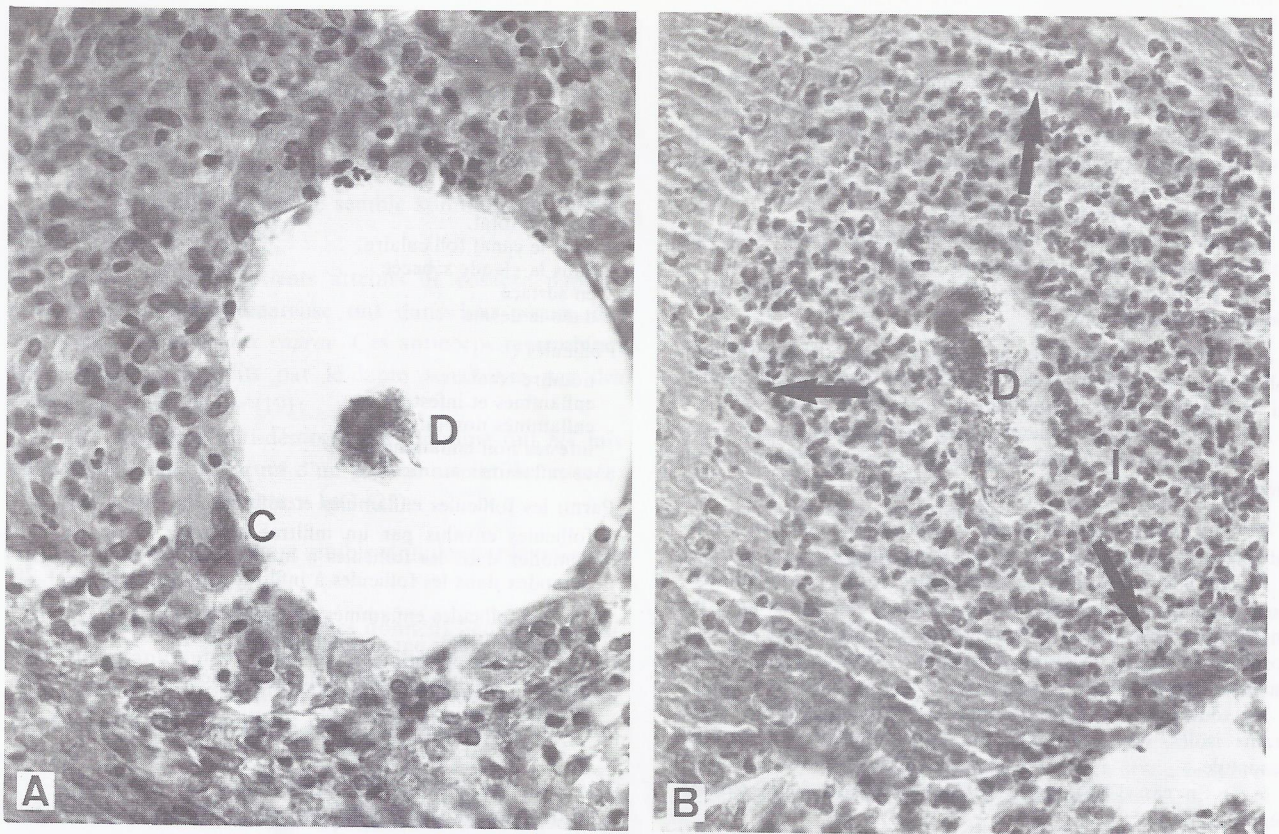


FIG. 4. — A) Granulome à démodex : C = cellule géante ; D = démodex ($\times 475$) (hémalun-éosine-safran).
 B) Folliculite à démodex : D = démodex ; flèches = limite de l'épithélium folliculaire ; I = infiltrat de polymorphonucléaires nécrotiques ($\times 475$) (hémalun-éosine-safran).
 A) An intense granulomatous infiltrate surrounds a Demodex: C = giant cell; D = Demodex ($\times 475$) (hemalun-eosine-saffron).
 B) Folliculitis induced by Demodex: D = demodex; arrows = follicular epithelium; I = neutrophilic infiltrate ($\times 475$) (hemalun-eosine-saffron).

4 — INTERPRÉTATION. DISCUSSION

A. 1. Il y a 3,5 fois plus de démodex dans le canal que dans la glande, ce qui confirme la prévalence de *D. folliculorum* sur *D. brevis* (1), la majorité des parasites dans le canal étant des *D. folliculorum* (11).

La présence de démodex à la surface de la peau (23, 24) est confirmée et explique la transmission par contact direct (23, 37).

La présence de démodex dans le derme est exceptionnelle : 1 biopsie sur 69 infestées, à mettre en parallèle avec le chiffre de 1 biopsie sur 117 infestées d'une autre étude (1).

2. Une autre étude montre 2,3 *D. folliculorum* et 1,4 *D. brevis* par follicule infesté (1).

3. Les *D. brevis*, quand ils sont présents, se retrouvent souvent en grand nombre, bien qu'habituellement répartis isolément dans les lobules de la glande (1, 11) (fig. 5).

B. 1. Il existe une corrélation statistique positive entre la présence de démodex et le développement de l'inflammation.

Cette étude consistant en observations rétrospectives et ne résultant pas d'un protocole expérimental prospectif, aucune conclusion formelle ne peut être émise concernant la succession des événements : soit le follicule enflammé et donc altéré au départ, favorise l'infestation par démodex ; soit la présence de démodex induit une inflammation subséquente, hypothèse nettement plus séduisante.

La même remarque vaut pour les points B₂ et B₃.

D'autres études trouvent un infiltrat lympho-histiocytaire dans 29 p. 100 (1) à 42 p. 100 (35) des follicules infestés, les follicules non infestés étant moins souvent enflammés (1).

2. Il y a plus de démodex par follicule dans les follicules enflammés que dans ceux qui ne le sont pas. Ceci suggère

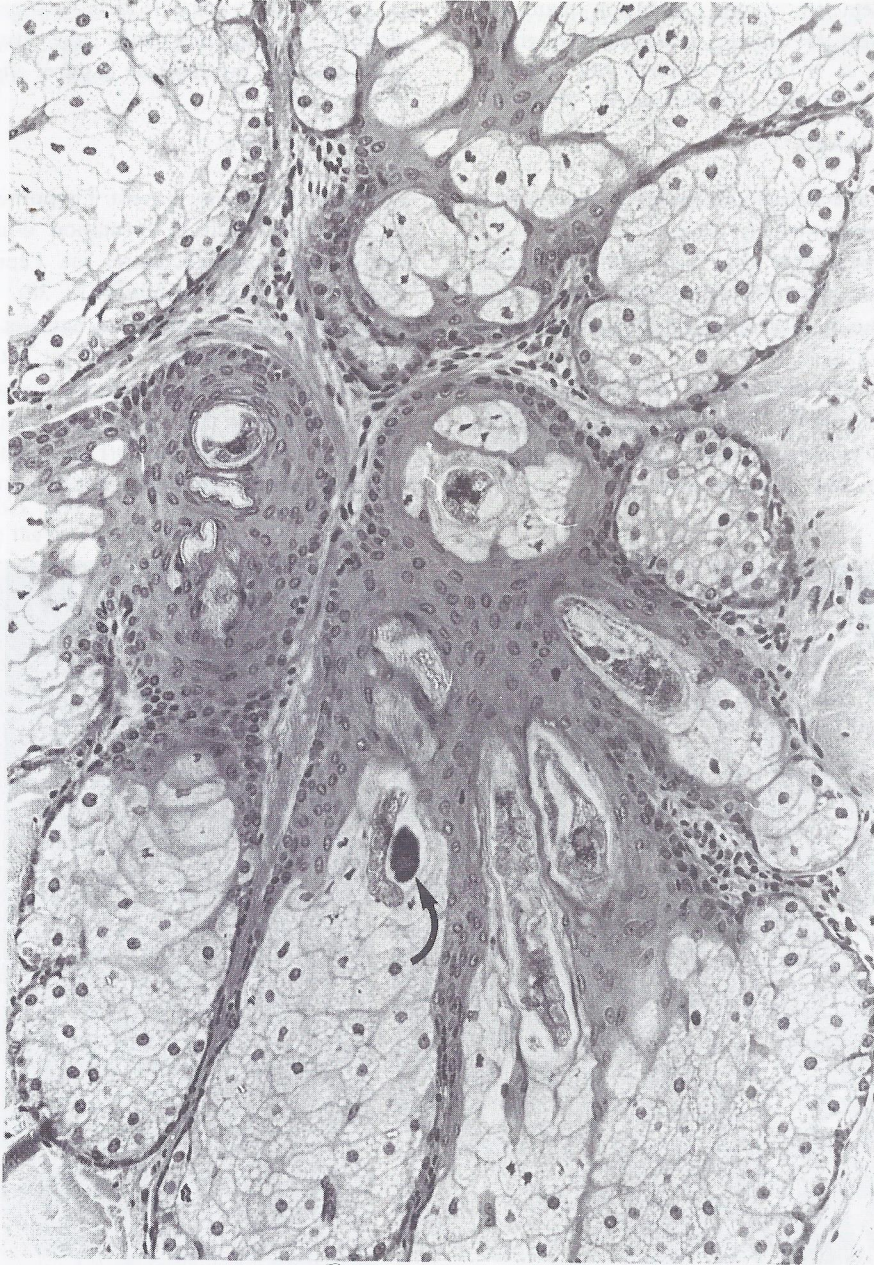


FIG. 5. — Glande sébacée envahie par *Demodex brevis*: ceux-ci se trouvent à 1 ou 2 maximum par lobule sébacé. L'œuf de *D. brevis* se reconnaît par sa forme ovale ($\times 200$) (hémalun-éosine-safran).

Many *Demodex brevis* invade the sebaceous complex, but there are only 1 or 2 mites within the same lobule. The ovum is characteristically ovoid ($\times 200$) (hemalun-eosine-saffron).

que la pullulation des démodex représente un stimulus supplémentaire à l'induction de l'inflammation... avec les réserves émises plus haut.

3. Il existe une corrélation statistique positive entre la présence de démodex et l'inflammation agressive. Ceci

suggère que la présence de démodex induit le caractère agressif de l'infiltrat périfolliculaire... avec les réserves émises plus haut.

4. Le nombre de démodex par follicule est identique que l'inflammation soit agressive ou non.

Ceci ne permet d'émettre aucune conclusion quant à la relation entre le nombre de démodex et le caractère agressif de l'infiltrat.

5 — OBSERVATIONS ISOLÉES

A côté de cette étude statistique, quelques observations isolées ont retenu notre attention.

1 — Le démodex peut créer une *brèche* dans les couches superficielles de l'épiderme folliculaire, provoquant ainsi la formation d'œdème intra et/ou extracellulaire et l'appel de lymphocytes (fig. 6 A).

2 — L'infiltrat lympho-histiocytaire semble migrer vers les démodex intra-folliculaires; ceux-ci peuvent ainsi engendrer de véritables *folliculites à démodex* (fig. 4 B), situation rencontrée dans 2 des 284 follicules infestés.

3 — D'autre part, le démodex peut *pénétrer* dans le derme, sans qu'intervienne une éventuelle fragilisation inflammatoire préalable de la paroi (fig. 6 B).

6 — CONCLUSION

Ces observations étayent l'hypothèse suivant laquelle le démodex induit la formation d'un infiltrat lympho-histiocytaire périfolliculaire, via l'épithélium folliculaire chez les individus sensibilisés (18, 38).

Cet infiltrat a tendance à agresser le follicule; si les démodex se multiplient, l'infiltrat est plus fréquemment présent mais pas nécessairement plus agressif. La pénétration du démodex dans le derme ne dépend pas nécessairement de la présence ou de l'agressivité de l'infiltrat mais plutôt d'un tropisme inhabituel du parasite.

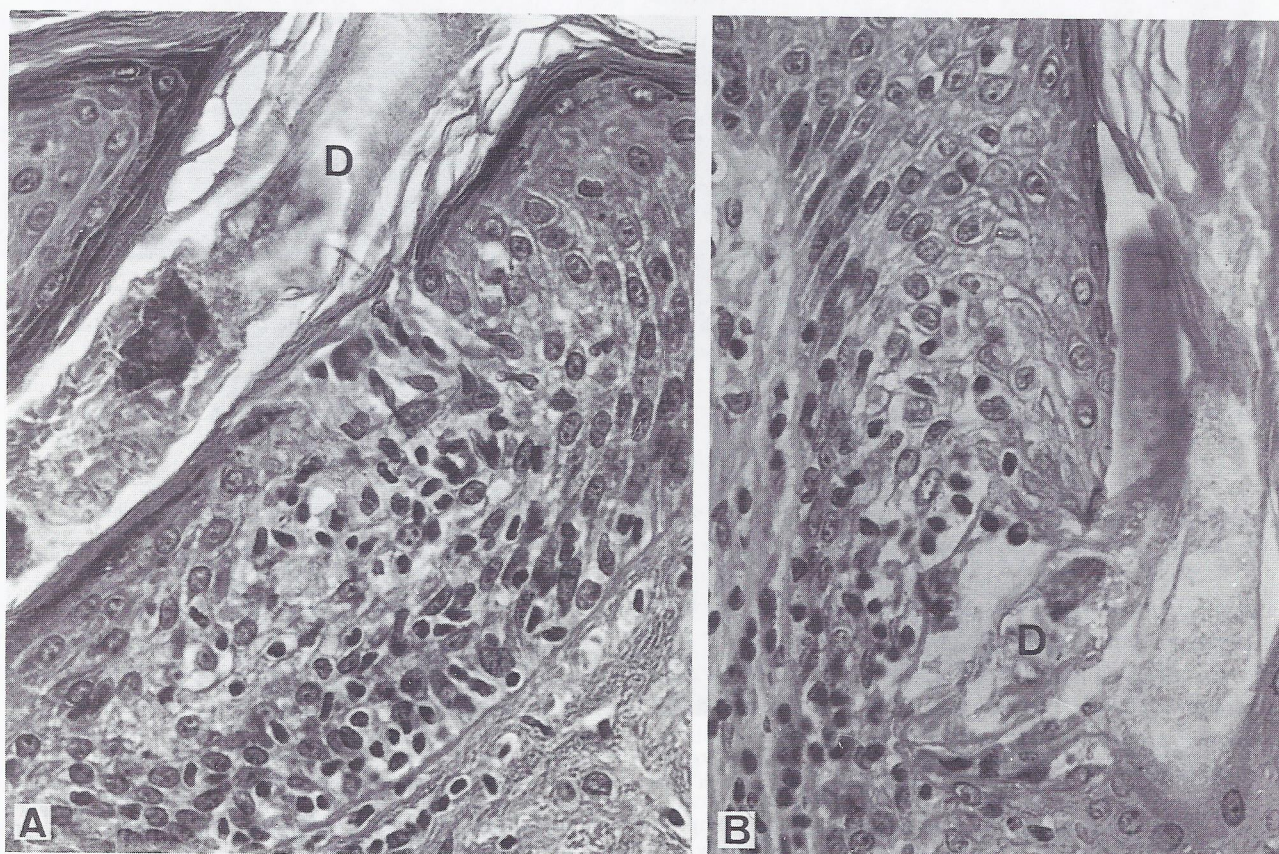


FIG. 6. — A) L'inflammation envahit la paroi folliculaire et se dirige vers la brèche de la couche cornée, en regard du démodex présent dans le sac folliculaire (× 475) (hémalun-éosine-safran).

B) Un démodex s'apprête à quitter le sac folliculaire en perforant la paroi, sans y avoir induit d'intense exocytose (× 475) (hémalun-éosine-safran).

A) The infiltrate migrates throughout the follicular wall towards the gap of the keratin layer facing Demodex (× 475) (hemalun-eosine-saffron).

B) A Demodex is breaking through the follicular epithelium without arousing severe exocytosis (× 475) (hemalun-eosine-saffron).

Ces données impliquent que soient reconsidérés les concepts étiopathogéniques et thérapeutiques dans les lésions type rosacée et dans les nodules inflammatoires solitaires.

Remerciements : Je remercie vivement le D^r B. SEYS qui s'est chargé de l'étude statistique ainsi que le Révérend Père A. VAN DER STRICHT, P^r émérite de Physique à l'Université catholique de Louvain, qui l'a supervisée.

SUMMARY

Demodex and perifollicular inflammation in man. A review of the literature and a study of 69 biopsies.

INTRODUCTION

Demodex is a small acarid, an obligatory parasite of the hair follicles in mammals (11, 16, 29). This paper contains a review of the literature concerning the parasitological and medical aspects of demodex, and an original study of 69 biopsies performed to explore the relations between demodex and follicular inflammation.

DEMODOX IN MAN

Demodex has a worm-like, translucent body (6). Two species are found in man: *D. folliculorum*, which lives in the pilo-sebaceous ducts, and *D. brevis*, which haunts the sebaceous (27) and meibomian (15) glands (fig. 1, 2 B, 5).

Present in all individuals (28), demodex is prevalent in regions rich in sebaceous glands (17). It may be suspected of being pathogenic in two circumstances: when present in large numbers in the follicles, or when found in an unusual place, *i. e.* the dermis. The clinical lesions in which its role is envisaged are:

- perioral dermatitis;
- blepharitis;
- solitary inflammatory nodule;
- rosacea. Some authors (18, 19) consider demodex as being responsible for granulomatous rosacea; others have described an entity, demodicidosis, that differs from the classical rosacea. Demodicidosis may be severe (8) or mild, in which case it is composed of *pityriasis folliculorum* and *rosacea-like demodicidosis* (2).

Among the histological lesions concomitant with the presence of demodex is a perifollicular lympho-histiocytic infiltrate (1, 6, 35) containing T-helper lymphocytes (38) (fig. 2 A). When located outside the follicles, in the dermis, demodex produces a granulomatous reaction containing T-helpers (38) and giant cells which ingest the parasite (8, 13, 18) (fig. 4 A). Integrity of the immune system seems to be necessary to control demodex proliferation (5); both the humoral (19, 25) and cellular (38) immune systems appear to be stimulated by the presence of demodex.

DEMODOX AND PERIFOLLICULAR INFLAMMATION

Material and methods

Sixty-nine skin biopsies, each containing at least 3 demodectic mites, were selected. Nine sections on average were examined in each biopsy specimen. The information obtained for the different

sections of a given specimen is summarized in table form. The figures obtained from the different biopsies were added together, and since the samples were sufficiently large the rules for statistical comparisons between normal distributions could be applied.

Criteria

Using precise criteria which are detailed in the article, the demodex-infested and/or inflamed follicles and the number of demodectic mites per follicle were counted. The location of the parasite was also recorded.

Results

The quantitative results of this study are given in table I.

A statistically significant positive correlation was found between the presence of demodex and the development of inflammation ($P < 0.001$). The number of demodectic mites per follicle was higher in inflamed ($n = 3.7$) than in non-inflamed ($n = 2.8$) follicles ($P < 0.001$).

There was a statistically significant positive correlation between the presence of demodex and that of aggressive inflammation ($P < 0.001$). The number of demodectic mites per follicle was the same in follicles with aggressive ($n = 3.7$) and non-aggressive ($n = 3.6$) inflammation.

Discussion

This being a retrospective, and not a prospective experimental study, no definite conclusion can be drawn concerning the sequence of events. Either an initial inflammation, and therefore alteration, of the follicle facilitates infestation with demodex, or the presence of demodex induces inflammation, this second hypothesis being by far the most attractive.

Isolated findings

Demodex may create, in the peripheral epithelial layers, a breach which encourages inflammation (fig. 6 A). The infiltrate seems to progress toward the intrafollicular parasites and may cause genuine demodex-induced folliculitis (fig. 4 B). On the other hand, demodex may penetrate into the dermis without prior inflammatory damage to the skin (fig. 6 B).

CONCLUSION

These findings support the hypothesis that demodex induces the formation of a perifollicular lympho-histiocytic infiltrate

in sensitized individuals, *via* the follicular epithelium (18, 38). This infiltrate tends to attack the follicle. When demodectic mites multiply, the infiltrate is more often present but not necessarily more aggressive.

The penetration of demodex into the dermis does not always

depend on the presence or aggressiveness of the infiltrate, but rather on an unusual tropism of the parasite.

Our findings imply that the pathogenic and therapeutic concepts concerning rosacea-like lesions and solitary inflammatory nodules should be reconsidered.

BIBLIOGRAPHIE

1. Aylesworth R., Vance J. C. : *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1982, 7, 583-598.
2. Ayres S. Jr., Ayres S. III : Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch. Dermatol.*, 1961, 83, 816-827.
3. Ayres S. Jr., Mihan R. : Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. *Arch. Dermatol.*, 1967, 95, 63-66.
4. Ayres S. Jr., Mihan R. : *Demodex granuloma* (letter). *Arch. Dermatol.*, 1979, 115, 1285-1286.
5. Bøge-Rasmussen T., Christensen J. D., Gluud B., Kristensen G., Norn M. S. : *Demodex folliculorum hominis* (Simon) : Incidence in a normomaterial and in patients under systemic treatment with erythromycin or glucocorticoid. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)*, 1982, 62, 454-457.
6. Breckenridge R. L. : Infestation of the skin with *Demodex folliculorum*. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1953, 23, 348-352.
7. Daniel F. : (1975) Acné rosacée. In: Encyclopédie médico-chirurgicale 12.490, A 10, 8-11. *Ed. Techniques*, Paris, 1982.
8. De Dulanto F., Camacho-Martinez F. : Demodicidose « gravis ». *Ann. Dermatol. Venereol.*, 1979, 106, 699-704.
9. Degos R. : Acné rosacée. In: *Dermatologie*, p. 494-495 h. Flammarion Médecine Science, Paris, 1981, 1.166 p.
10. Desch C., Nutting W. B. : *Demodex folliculorum* (Simon) and *D. brevis* Akbulatova of man: redescription and reevaluation. *J. Parasitol.*, 1972, 58, 169-177.
11. Desch C. E., Nutting W. B. : Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)*, 1977, 19, 422-462.
12. Du Bois : Recherche du *Demodex folliculorum hominis* dans la peau saine. *Ann. Derm. Syph.*, 1910, 1, 188-190.
13. Ecker R. I., Winkelmann R. K. : *Demodex granuloma*. *Arch. Dermatol.*, 1979, 115, 343-344.
14. English F. P., Iwamoto T., Darrell R. W., De Voe A. G. : The vector potential of *Demodex folliculorum*. *Arch. Ophthalmol.*, 1970, 84, 83-85.
15. English F. P., Nutting W. B. : Demodicidosis of ophthalmic concern. *Am. J. Ophthalmol.*, 1981, 91, 362-372.
16. Euzéby J. : Les infections parasitaires des follicules pilo-sébacés en médecine vétérinaire. *Rev. Med. Vet.*, 1970, 121, 981-1011.
17. Fuss F. : La vie parasitaire du *Demodex folliculorum hominis*. *Ann. Derm. Syph.*, 1933, 4, 1053-1062.
18. Grosshans E. M., Kremer M., Maleville J. : *Demodex folliculorum* und die Histogenese der granulomatösen Rosacea. *Hautarzt*, 1974, 25, 166-177.
19. Grosshans E., Dangler T., Kien T. T., Kremer M. : *Demodex folliculorum* und Rosacea: experimentelle und immunologische Studien. *Z. Hautkr.*, 1980, 55, 1211-1218.
20. Marks R., Harcourt-Webster J. N. : Histopathology of rosacea. *Arch. Dermatol.*, 1969, 100, 683-691.
21. Marks R., Black M. M. : Perioral dermatitis: a histopathological study of 26 cases. *Br. J. Dermatol.*, 1971, 84, 242-247.
22. Miskjian H. G. : Demodicidosis. *Demodex* infestation of the scalp. *Arch. Dermatol. Syph.*, 1951, 63, 282-283.
23. Norn M. S. : *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol.*, 1970, suppl. 108, 1-85.
24. Norn M. S. : Incidence of *Demodex folliculorum* on skin of lids and nose. *Acta Ophthalmol.*, 1982, 60, 575-583.
25. Nunzi E., Reborá A., Hamerlinck F., Cormane R. H. : Immunopathological studies on rosacea. *Br. J. Dermatol.*, 1980, 103, 543-551.
26. Nutting W. B. : Host specificity in parasitic acarines. *Acarologia*, 1968, 10, 165-180.
27. Nutting W. B. : Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int. J. Dermatol.*, 1976, 15, 79-98.
28. Nutting W. B. : Hair follicle mites (*Demodex* spp.) of medical and veterinary concern. *Cornell Vet.*, 1976, 66, 214-231.
29. Nutting W. B., Andrews J. R. H., Desch C. E. : Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. *J. Biol. Education*, 1979, 13, 315-321.
30. Ohtaki N., Irimajiri T. : Demodectic eruption following the use of topical corticosteroids (in Japanese). *Jpn. J. Dermatol.*, 1977, 31, 465-469 (cité par 37).
31. Pajarre R., Peura R. : Scanning electron microscopy of *Demodex brevis* (*folliculorum*). *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)*, 1977, 57, 529-531.
32. Post C. F., Juhlin E. : *Demodex folliculorum* and blepharitis. *Arch. Dermatol.*, 1963, 88, 298-302.
33. Ramelet A. A., Delacrétaz J. : Étude histo-pathologique de la dermite péri-orale. *Dermatologica*, 1981, 163, 361-369.
34. Robinson T. W. E. : *Demodex folliculorum* and rosacea. *Arch. Dermatol.*, 1965, 92, 542-544.
35. Roth A. M. : *Demodex folliculorum* in hair follicles of eyelid skin. *Ann. Ophthalmol.*, Chicago, 1979, 11, 37-40.
36. Ruffi T., Mumcuoglu Y., Cajacob A., Büchner S. : *Demodex folliculorum*: Zur Ätiopathogenese und Therapie der Rosacea und der perioralen Dermatitis. *Dermatologica*, 1981, 162, 12-26.
37. Ruffi T., Mumcuoglu Y. : The hair follicle mites *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis*: biology and medical importance. *Dermatologica*, 1981, 162, 1-11.
38. Ruffi T., Büchner S. A. : T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of *Demodex folliculorum*. *Dermatologica*, 1984, 169, 1-5.
39. Sato Y., Higuchi H., Sato U. : Demodectic eczematoid eruption on the face of a boy receiving a long-term corticosteroid treatment. *Jpn. J. Dermatol.*, 1965, 75, 331 (cité in 27 et 38).
40. Spickett S. G. : Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). I. Life history. *Parasitology*, 1961, 51, 181-192.
41. Storer T. and coll. : *General Zoology*, p. 628-629, MacGraw-Hill, New York, 1972, Fifth Ed., 899 p.

Nous avons donc principalement mis en évidence une **relation statistique positive entre l'inflammation périfolliculaire et les Demodex intra folliculaires**, relation qui a été confirmée par la suite par deux autres études (§ 3.5).^{34,199}

L'article contient aussi une photo exceptionnelle qui prouve que **le parasite pénètre dans le derme suite à un tropisme qui lui est propre** (Fig. 68 c).⁷⁵

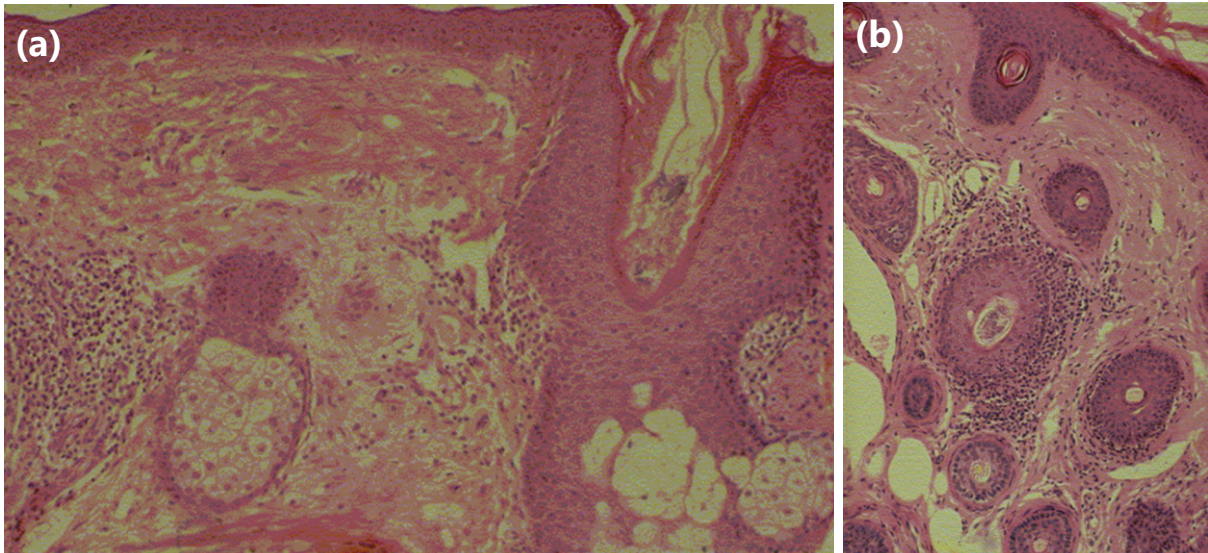


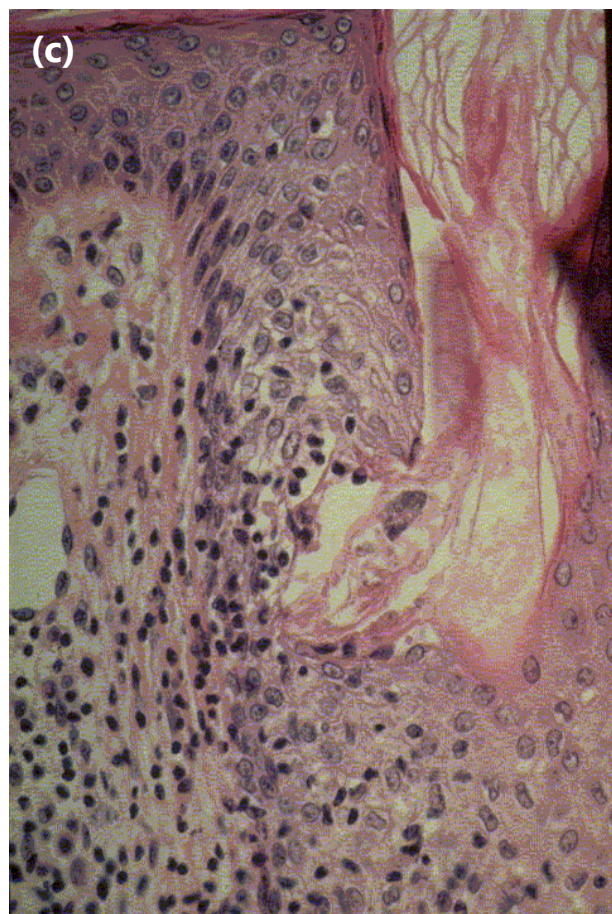
Fig. 68. Reproductions en couleur des principales photographies publiées en noir et blanc dans l'article : coupes histologiques (hémalun éosine-safran).

(a) Coupe longitudinale d'un *D folliculorum* dans le canal pilo-sébacé.

L'infiltrat périfolliculaire est souvent localisé au niveau du gnathosome de l'acarien : c'est avec ses accessoires buccaux qu'il provoque la brèche épithéliale la plus importante.

(b) Coupe transversale de plusieurs follicules pilo-sébacés : le plus enflammé contient un Demodex, illustrant la **relation statistique entre l'infiltrat lymphocytaire et la présence de Demodex.**

(c) Coupe longitudinale d'un *D folliculorum* dans le canal pilo-sébacé, pris en flagrant délit, **en train de traverser une paroi folliculaire intacte**, quasi non enflammée. En mangeant les cellules humaines transversalement, il



dévie de sa trajectoire habituelle (parallèle au poil) et pénètre à travers l'épithélium : on voit l'acarien traverser activement la paroi folliculaire pour pénétrer dans le derme, **sans que cette paroi ait été détruite préalablement par un infiltrat.**

3.2. 1993 : SSSB & densité normale en Demodex ≤ 5 D/cm² ⁵¹

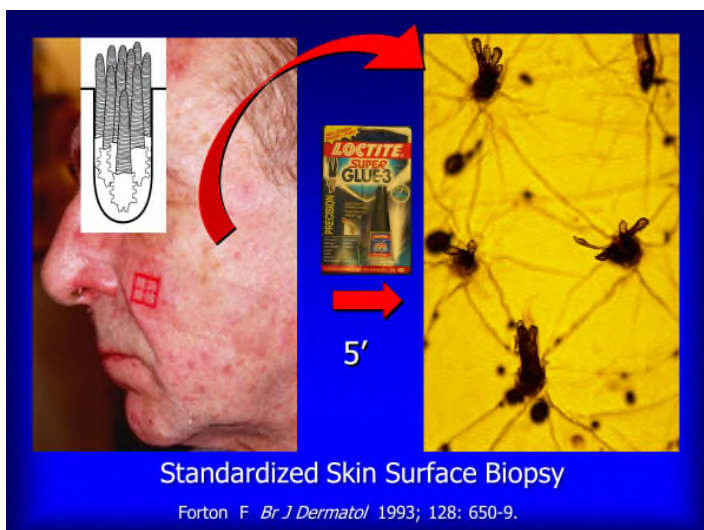
A l'époque, la prolifération du parasite dans la rosacée n'était pas établie. Marks et Harcourt-Webster en 1969,²⁰³ ainsi que Ramelet et Perroulaz en 1988²¹⁹ avaient analysé respectivement 24 et 75 biopsies de rosacée, et n'y avaient observé que peu d'infiltrat périfolliculaire, encore moins de parasites et d'inflammation autour des follicules infestés. Ils en concluaient que la rosacée n'était pas un phénomène folliculaire et que le parasite ne paraissait pas intervenir dans la rosacée.^{203,219}

Cependant, cette méthode n'est pas adaptée à la recherche du parasite¹³ car les prélèvements sont de petite taille⁴²⁵ et ne contiennent dès lors que très peu de follicules. Parfois, les tranches analysées ne contiennent même aucun follicule, ce qui réduit presque totalement les chances de détecter le parasite.⁵¹ Ainsi, ces auteurs ne l'ont détecté respectivement que dans 14/24²⁰³ et 2/75²¹⁹ biopsies. Il fallait donc trouver une méthode suffisamment sensible, **adaptée au biotope du parasite**.

De plus, bien que certains aient déjà compris au début du XX^{ème} siècle que la pathogénicité du parasite dans la peau n'était pas liée à sa seule présence mais plutôt à sa prolifération excessive,^{1,6,7,13,59} les auteurs ne parlaient que de « beaucoup de Demodex » ou de « peu de Demodex »,^{76,280} qui sont des notions vagues non comparables. En 1993, nous avons dès lors introduit le **concept de densité en Demodex**, permettant d'objectiver et de comparer les quantités de parasites dans la peau, et avons mis au point une méthode de prélèvement pour la mesurer de façon objective et reproductible, en standardisant une méthode de prélèvement existante. En effet, en 1971, Marks et Dawber avaient décrit la « biopsie cutanée de surface » (ou « skin surface biopsy » (SSB)), qui permettait de prélever la partie superficielle de la couche cornée⁵³⁴ et le contenu des infundibulum pilaires, et ainsi, de détecter, entre autres, la présence de *D folliculorum*.^{57,535} En 1993, nous avons standardisé la

surface à analyser à 1 cm² et nous avons baptisé cette méthode la « **biopsie cutanée de surface standardisée** » (ou « standardized skin surface biopsy » [SSSB]) (Fig. 69).⁵¹

Fig. 69. Représentation schématique illustrant le principe de la biopsie cutanée de surface standardisée (SSSB).⁵¹



Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy

F.FORTON AND B.SEYS*

Clinic of Dermatology, Saint Pierre University Hospital, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium

*Unit of Medical Sciences Pedagogy, Faculty of Medicine, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium

Accepted for publication 26 June 1992

Summary

A standardized skin-surface biopsy (1 cm²) of the cheek was performed in 49 patients with rosacea [13 with erythematotelangiectatic rosacea (ETR), three with squamous rosacea (SR), 33 with papulopustular rosacea (PPR)], and 45 controls.

A mean density of 0.7 *Demodex folliculorum*/cm² was found in controls, 98% of whom had less than five *Demodex*/cm². When all clinical types of rosacea were considered collectively, the density of *Demodex* was significantly higher in patients with rosacea than in controls (mean = 10.8/cm²; $P < 0.001$). When the various clinical types of rosacea were considered separately, *Demodex* density was statistically significantly higher than in controls only in the PPR patients (mean = 12.8/cm²; $P < 0.001$).

The same type of comparison was also made for three other groups of subjects—patients with isolated inflammatory papules ($n = 4$), rhinophyma ($n = 3$), and HIV infection ($n = 21$), respectively: in these groups, the *Demodex* density did not differ significantly from controls.

The present study demonstrates a high density of *D. folliculorum* in PPR, and supports its pathogenic role in the papulopustular phase of rosacea. The study suggests that standardized surface biopsy could be a useful diagnostic tool for PPR, with a 98% specificity when *Demodex* density is higher than 5/cm².

Demodex folliculorum is a transparent mite, 0.3 mm long, which asymptotically parasitizes the human pilosebaceous follicles (Fig. 1).^{1–4} The proportion of *Demodex* carriers (prevalence) increases with age,^{1,5–9} and the reported prevalence is also determined by the fastidiousness of the detection method used.^{5–17} A variety of prevalence rates in different age-groups have been reported in a number of studies (Table 1).^{5–7,11,14}

The pathogenic role of *Demodex* is still a matter of debate. To date, it has been implicated in the occurrence of the dry, 'pityriasis-like' erythemasquamous rosacea,¹⁸ in papulopustular and/or granulomatous rosacea,^{19–22} including localization on the bald scalp,²³ in isolated inflammatory papules,^{13,21,24} and in some cases of blepharitis.²⁵

It is difficult to establish the pathogenicity of *D. folliculorum* in rosacea because of three factors: the localization of the disease, the obligate character of the parasite, and its ubiquity in man. Indeed, because

rosacea is a benign dermatosis mainly localized to the face, it may be difficult to justify a standard skin biopsy to study the disease. In addition, as *D. folliculorum* is a very host-specific obligate parasite, it cannot at present be grown *in vitro*, which makes a massive experimental infestation impossible. The mere detection of its presence is no proof of pathogenicity because it is so ubiquitous. It is usually considered as playing a pathogenic role when present in 'very large' numbers,¹⁸ and in an intradermal location.^{19–21,24}

The principal aim of the present study was to determine the pathogenic relevance of *D. folliculorum* in rosacea by comparing the mite density in healthy subjects with that in patients suffering from rosacea. We considered the various clinical types of rosacea separately, i.e. erythematotelangiectatic (ETR), squamous or pityriasis-like rosacea (SR), and papulopustular rosacea (PPR).

In addition, the same comparison was made in patients suffering from rhinophyma or isolated inflammatory papules (IIP), and in individuals suffering from human immunodeficiency virus (HIV) infection.

Correspondence: Dr F.Forton, rue F. Binjé 8, B-1030 Bruxelles, Belgique.

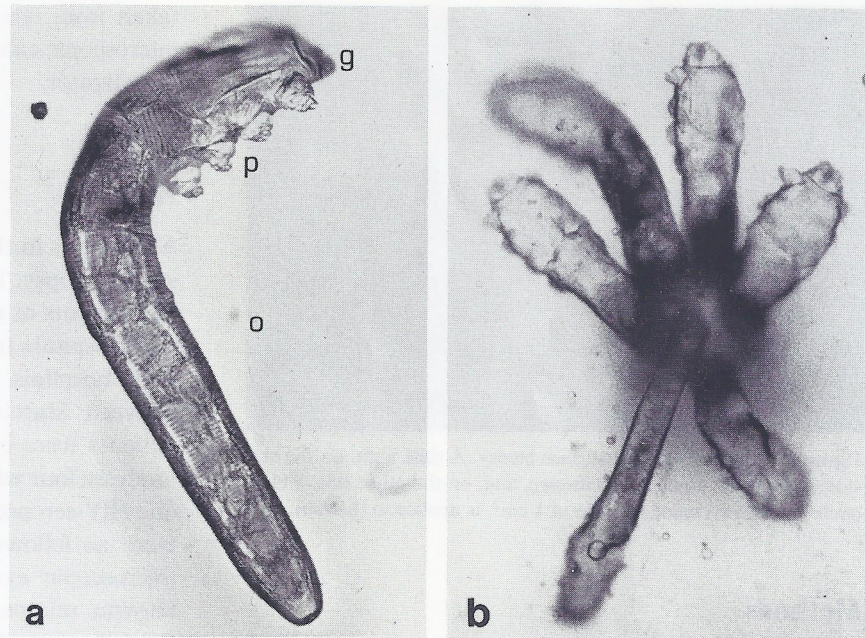


Figure 1. *Demodex folliculorum* as it can be seen on a skin surface biopsy. (a) Three-quarters right aspect ($\times 500$): from top to bottom, the body consists of a gnathosome (g) or rostrum made of the oral parts, a podosome (p) bearing four pairs of legs, and an opisthosome (o) or abdomen, transversely striated along its whole length. (b) Six parasites grouped in the same pilosebaceous follicle ($\times 250$).

Table 1. *Demodex* prevalence according to sampling methods since 1910*

Reference.	Year	Method	n	Subjects		Prevalence %
				State	Age (years)	
Dubois ⁵	1910	Nose, comedone expression	250	a	<5	0
				a	5-10	50
				a	>10	100
Kaufmann-Wolf ¹⁰	1925	50 lanugo hairs, epilation	10	a	30-57	90
Fuss ¹¹	1933	Comedone-extractor, 3 successive extractions	100	a	1-82	100
				c	—	100
Beerman and Stokes ¹²	1934	Comedones and superficial scrapings	29	a	—	52
Breckenridge ¹³	1953	1 slide/biopsy, 1 biopsy/case	1435	a	—	13
Riechers and Kopf ¹⁴	1969	16 biopsies/case	9	c	53-91	100
Norn ⁶	1970	50-150 lashes/case, epilation	100	c	40-100	89
		8 lashes/case, epilation	400	a	40-69	48
Norn ¹	1971	280 hairs, epilation; or expression of material from sebaceous glands	50	a	44-96	98
Nutting and Green ¹⁵	1976	Biopsy	23	a	21-60	70
Roth ⁷	1979	Eyelid biopsy, multiple step sections	100	a	27-87	84
Aylesworth and Vance ⁸	1982	Biopsy	1124	a	0-90	10
		Biopsy exhibiting follicles	668	a	0-90	18
Norn ¹⁶	1982	Adhesive tape impression, nose and eyelids	206	a	0-80	28
Andrews ⁹	1982	1 single sebum extraction from nasolabial folds	88	a	19-58	17
Sengbusch and Hauswirth ¹⁷	1986	1 single sebum extraction from nasolabial folds	370	a	0-90	54.9

* For references prior to 1910, see Beerman and Stokes¹²; a, alive, c, cadaver.

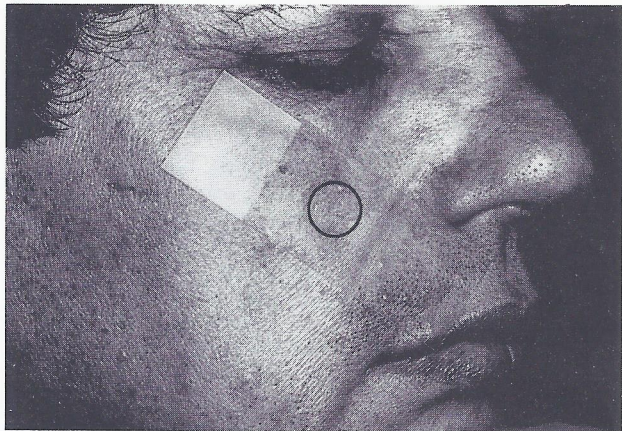


Figure 2. Standardized skin-surface biopsy. A slide with, on the skin side, a drop of cyanoacrylic adhesive, and, on the other side, a black circle enclosing a standard area of 1 cm², is applied to the skin.

Methods

Sampling method: the standardized skin-surface biopsy

Skin-surface biopsy is a non-invasive sampling method by which it is possible to collect the superficial part of the horny layer and the complete follicle contents. It consists of placing a drop of cyanoacrylic adhesive (Loctite®) on a microscope slide, applying the adhesive-bearing surface of the slide to the skin, and removing it gently after it has been allowed to dry (about 1 min).^{26,27} Initially, a black preprinted circle, 11.5 mm in diameter (Decadry® No. 223, Alphac Products), is placed on the slide, to facilitate examination of a standard surface area of 1.03 cm² (Fig. 2). After removal from the skin, each sample is clarified with 2–3 drops of immersion oil, and then covered with a cover slip.

The samples were studied microscopically at standard magnifications ($\times 40$, $\times 100$, $\times 400$), and each specimen was examined at least three times. The examination was performed as soon as possible after sampling, in order to aid detection of the parasites, because their movements decrease with time, and they gradually disintegrate. In the present study, a maximum of 4 h elapsed between the time of sampling and examination of specimens.

Only *D. folliculorum* clearly identified on the basis of anatomical characteristics were counted.⁴ A detailed record of the number and distribution of the mites was kept on a chart in the patient's notes. The cheek was the site used for skin surface biopsy in controls, and in patients with rosacea, and HIV infection. In cases of rhinophyma, the biopsy was on the nose, and in patients with inflammatory papules on the face, samples were

taken from directly over the lesions. The clinical and microscopic examinations were performed by the same investigator.

Patients

All patients in the study gave informed consent to skin-surface biopsy. They were recruited from in-patients and out-patients at the Saint Pierre and Brugmann University Hospitals in Brussels (Belgium), from the staff of these hospitals, and from close relatives of the authors, between March 1987 and November 1988. Eleven patients were excluded from the study at the time of analysis: four with ETR, five with PPR, one with IIP, and one HIV-seropositive patient. The reasons for exclusion were as follows: the interval between sampling and microscopic examination exceeded 4 h or was not known; microscopic examination had not been performed; one HIV-seropositive patient was excluded because his staging was not known.

Five groups of patients were analysed.

1 Forty-five controls with normal facial skin, without telangiectases (mean age 41 years; SEM 2.3; range 21–79). Thirty-four (75%) were women.

2 Forty-nine patients with rosacea: 13 ETR, 3 SR, and 33 PPR (mean age 49 years; SEM 1.8; range 22–78). In the subgroups, the mean age was 49, 58, and 48, respectively. Thirty-two patients (65%) were women. The proportion of women in the various subgroups was almost identical (77% ETR; 67% SR; 61% PPR). The controls and the rosacea patients were matched for sex, but not for age ($P < 0.01$).

In the 33 PPR patients, the nature and duration of previous therapy were noted. Eight patients had not been treated, or their previous therapy had been discontinued at least 2 months before the first visit; five were receiving cosmetic treatments (moisturizing creams); seven were being treated with topical steroids; nine were receiving other treatments, including oral tetracyclines, antibiotic creams, and topical epinephrine hydrochloride; in four the type of treatment was not known.

3 Four female patients suffering from IIP (mean age 52 years; SEM 6.4; range 35–65). The papules were localized periorally (one patient), on the cheek (one patient), the chin (two patients), and the nose (one patient).

4 Three male patients with rhinophyma who were aged 65, 71, and 77.

5 Three factors led us to analyse the density of *D. folliculorum* in the patients with HIV infection: (a) the

Table 2. *Demodex* density in the groups studied

Studied groups	n	<i>Demodex</i> density (<i>Demodex/cm</i> ²)			Tests
		Median	Q3-Q1	Mean ± SEM	
Controls	45	0	1	0.7 ± 0.25	—
Rosacea (all)	49	4	18	10.8 ± 2.02	P < 0.001
Erythematotelangiectatic	13	0	1	5.1 ± 4.26	NS
Squamous	3	13	27	13.3 ± 7.80	NS
Papulopustular	33	7	20	12.8 ± 2.36	P < 0.001
Rhinophyma	3	0	—	0	—
Isolated inflammatory papules	4	0	17	6.3 ± 4.05	NS
HIV seropositive					
Stage I	2	0	—	0	—
Stage II	1	0	—	0	—
Stage III	4	0	—	0	—
Stage IV	14	0	5	1.8 ± 0.81	NS

n, number of subjects; Q3-Q1, interquartile interval; tests, comparison with controls by robust rank-order test; NS, not significant; —, no computable value.

development of opportunistic infections in immunodepressed patients, including AIDS patients; (b) two reports of an increase in numbers of *D. folliculorum* during corticosteroid therapy;^{28,29} (c) the fortuitous finding by a colleague of a large number of *D. folliculorum* in a sample of pityriasis versicolor scales taken from the thorax of an AIDS patient (this patient did not participate in the study).

Most of the 21 HIV-positive patients were male [$n = 14$ (67%)], which differentiates them from controls ($P < 0.005$). Their disease stage was determined during the clinical part of the study according to the nomenclature used at the time: two were asymptomatic carriers (stage I), one was in stage II (lymphadenopathic syndrome), four in stage III [AIDS-related complex (ARC)], and 14 in stage IV (full-blown AIDS). The mean age of these patients was 37 (SEM, 2.4; range, 22-60).

Statistical analysis

Comparability of control and study groups for sex and age was assessed by means of the chi-squared test and Student's *t*-test, respectively.

Because *D. folliculorum* densities are counts, these are likely to follow a priori a Poisson distribution, and the variance will alter with the mean. This was actually observed in control and study groups (Table 2). In such a situation, the usual parametric or non-parametric techniques which are sensitive to the equality of variances of the underlying distribution are not useful. Two methods were used to overcome this difficulty, known as the

Behrens-Fischer problem.³⁰ (i) The dependent variable (*D. folliculorum* density) was applied a square-root transformation in order to obtain an equalization of variances. An ANOVA technique was then performed on these data.³¹ This method was used for testing the relationship between *D. folliculorum* density and previous therapy in the PPR group. (ii) Because intragroup variances remain too unequal, despite this transformation, to test the main hypothesis of this study (Table 2) and relationship to age (Table 3), two non-parametric techniques were used which require no assumption on the underlying distribution of the data: the robust rank-order test for comparison of *D. folliculorum* density

 Table 3. Association between *Demodex* density and age in controls and rosacea groups

Age-groups (years)	Controls		Rosacea	
	n	<i>Demodex</i> density Mean ± SEM	n	<i>Demodex</i> density Mean ± SEM
20-29	15	1 ± 0.7	4	15.5 ± 8.9
30-39	10	0.1 ± 0.1	6	5.3 ± 3.3
40-49	8	1.3 ± 0.5	17	17 ± 4.6
50-59	7	0.4 ± 0.3	13	7.3 ± 2.8
60-69	0	—	7	5.6 ± 1.8
70-79	5	0.8 ± 0.8	2	5.5 ± 2.5
<i>r</i> _s value		0.028		-0.066
Test		NS		NS

n, number of subjects; *Demodex* density, *Demodex/cm*²; *r*_s, Spearman rank-order correlation coefficient; —, no computable value.



Figure 3. PPR in a 33-year-old woman in whom skin-surface biopsy showed six *Demodex*/cm².

between each of the studied groups and controls, and the Spearman rank-order correlation coefficient (r_s) for analysing the association of age and *D. folliculorum* density both in control and rosacea groups (Table 3).³⁰

Tests were performed at 0.05 significance level. Rejection region was two-tailed, except for analysis of age (Table 3) in which it was one-tailed, in accordance with the hypothesis of an increased *Demodex* density with age.

Mean values are given with the standard error of the mean (SEM). When consistent, the median and the interquartile interval (Q3-Q1) are given.

Results

The density of *D. folliculorum* showed no significant relationship with age, either in the control group or in the rosacea group (Table 3).

Table 4. Value of the criterion 'density of *Demodex folliculorum* > 5/cm²' to confirm a clinical diagnosis of papulopustular rosacea (PPR)

Density of <i>D. folliculorum</i> /cm ²	PPR	Controls	Total
> 5	18	1	19
< 5	15	44	59
Total	33	45	78

Diagnostic value: specificity 44/45=0.98;
sensitivity 18/33=0.55;
positive predictive value 18/19=0.95;
negative predictive value 44/59=0.75.

The density of *D. folliculorum* in the group of rosacea patients (mean 10.8; median 4) was significantly higher than in controls (mean 0.7; median 0) [$P < 0.001$] (Table 2).

Demodex folliculorum density in the PPR patients (mean 12.8; median 7) was significantly higher than in controls (mean 0.7; median 0) [$P < 0.001$] (Table 2; Figs 3 and 4).

In the ETR, SR, IIP and stage IV AIDS groups, the density was higher than in controls, although none of these differences was significant (Table 2). In IIP patients, the observed densities were 17, 8, 0 and 0. The density was nil among rhinophyma and stage I, II, and III AIDS patients.

When compared with controls, a density of *D. folliculorum* > 5 was very PPR-specific. This criterion had a 98% specificity, a 95% positive predictive value, a 55% sensitivity, and a 75% negative predictive value (Table 4).

The scattering of *D. folliculorum* densities varied markedly according to the group studied (Table 2). They were not very scattered in the controls and ETR groups, where 50% of the values around the median (interquartile interval) spread on an interval of only 1 *Demodex*/cm². The values were more scattered in the PPR group, where the interquartile interval was 20, and in the SR group, where the interval was 27 (however, the small number of findings in the latter group did not allow any conclusion to be drawn). In the other groups, *D. folliculorum* densities showed an intermediate scattering pattern.

In the PPR group, there was no significant relationship between previous therapy and mean *D. folliculorum* density, although the values varied from 6.9/cm² in cases treated with topical corticosteroids to 19.6/cm² in those receiving no treatment. The values were intermediate in cases receiving cosmetic treatment (16.4 ± 7.3/cm²) or other treatments (11.4 ± 3.8/cm²).

Discussion

Demodex (Greek: *demos* = fat; *dex* = woodworm) was first discovered by Henle and Berger in 1841, and described in detail by Simon in 1842. Two different species can be found in man: *Demodex folliculorum*, a long form which lives in the pilosebaceous duct, and *Demodex brevis*, a short form which inhabits the sebaceous and meibomian glands.¹

The real prevalence of the mite is probably 100%, based on evidence from the most fastidious studies which

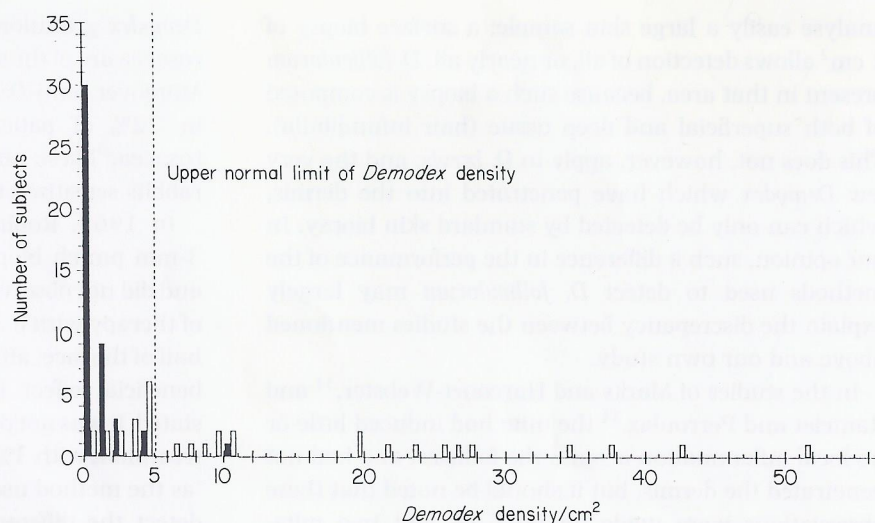


Figure 4. Distribution of *Demodex* density in control and PPR groups. ■ controls ($n=45$); □ PPR ($n=33$).

have employed many samplings per individual (Table 1).^{5,11,14} However, we found only 15 *Demodex* carriers in 45 controls (i.e. a prevalence of 33.3%), but this was probably because we sampled only a small area on each subject's face. Standardized skin-surface biopsy is not a method designed to study the mite prevalence in the population, but to estimate *Demodex* density—or, more precisely, *Demodex folliculorum* density—in each subject. The method collects the superficial part of the horny layer and the whole follicle contents, and therefore detects the few mites present on the skin surface and the more numerous mites in the pilosebaceous duct,^{16,32} i.e. almost exclusively *D. folliculorum*.^{2,32} *Demodex brevis*, which is principally found in the sebaceous glands,² and the occasional *D. brevis* and/or *D. folliculorum* which have penetrated into the dermis are not detected by this method.

Most published observations have shown that the prevalence of *Demodex* increases with age (Table 1).^{1,5-9} In a more recent study, Sengbusch and Hauswirth found a pronounced increase in *D. brevis* prevalence with age, whereas the prevalence of *D. folliculorum* tended to remain more constant.¹⁷ In our study, we did not observe an increased *D. folliculorum* density with age, either in the control group or in the rosacea group (Table 3). This stability of mite density with age could partly explain the stability of its prevalence.

The role of *D. folliculorum* in rosacea remains controversial. Marks and Harcourt-Webster in 1969,³³ and Ramelet and Perroulaz in 1988,³⁴ studied skin biopsies from patients with rosacea, and found mites in only a small proportion of cases (14/74 PPR³³ and 2/75 rosacea³⁴). They suggested that these results argued against a pathogenic role for *Demodex* in rosacea. The

discrepancy between these studies and our own observations can be explained by the different methodology employed. *Demodex* is not as easily detected in histological preparations as in skin surface biopsy. In skin-surface biopsy specimens the mites are intact, alive, they move, and are easy to detect, whereas, according to Bøge-Rasmussen, 'in histologic preparations, the mite shrinks rapidly and transforms into a translucent "ghost" sac of chitin which it is impossible to identify in the preparation'.²⁸ However, with some experience, and a good knowledge of its anatomy,⁴ *Demodex* is not very difficult to detect, and this is reflected by demonstration of the mite in 10% of skin-biopsy specimens.⁸ Another possible explanation would be that, although standard skin biopsy allows the detection of *Demodex*, it is, however, limited by the small volume of material assessed. A standard biopsy from a patient with rosacea is usually small ($<1\text{ cm}^2$) because it is taken from the face, and only a limited number of sections are examined (for example, four sections/case³⁴). In addition, the sections do not necessarily contain a follicle, a necessary prerequisite for detection of *Demodex*.⁸ Finally, because the thickness of the section is usually $5\ \mu\text{m}$, and the mean interval between two sections is $25\text{--}50\ \mu\text{m}$, *D. folliculorum*, the opisthosome of which has a width of $31\text{--}44\ \mu\text{m}$,³ and runs parallel to the axis of the hair, may be missed because it is present between two sections. Performing serial sections at narrow intervals may, of course, reduce the likelihood of this. In the studies mentioned above,^{33,34} serial sections were carried out in only 24 of 108 biopsies (at $20\text{-}\mu\text{m}$ intervals),³³ and in seven of 75 cases.³⁴ In contrast, the sampling obtained with skin-surface biopsy corresponds exactly with the usual location of *D. folliculorum*, and makes it possible to

analyse easily a large skin sample: a surface biopsy of 1 cm² allows detection of all, or nearly all, *D. folliculorum* present in that area, because such a biopsy is composed of both superficial and deep tissue (hair infundibula). This does not, however, apply to *D. brevis*, and the very few *Demodex* which have penetrated into the dermis, which can only be detected by standard skin biopsy. In our opinion, such a difference in the performance of the methods used to detect *D. folliculorum* may largely explain the discrepancy between the studies mentioned above and our own study.

In the studies of Marks and Harcourt-Webster,³³ and Ramelet and Perroulaz,³⁴ the mite had induced little or no local inflammation around the follicles, and had not penetrated the dermis, but it should be noted that these observations were made on only 14 and two mite-containing biopsies, respectively. However, perifollicular inflammation, and penetration of the dermis by mites, are phenomena which have been extensively documented. Perifollicular inflammation occurring around infested follicles has been noted by several authors, based on systematic examination of skin biopsies (not only of rosacea).^{7,8,13,35} In 1979, Roth examined 100 palpebral skin biopsies, and found an infiltrate around 42% of infested follicles.⁷ In 1982 Aylesworth and Vance examined 1124 biopsies, 117 of which were infested by *Demodex*, and found a lymphohistiocytic infiltrate around 29% of the infested follicles.⁸ In 1986, we examined 69 biopsies (selected only on the basis of the presence of *Demodex*). We found 986 *Demodex* and 710 follicles, and established a statistically significant relationship between the presence of *Demodex* and perifollicular lymphohistiocytic inflammation.³⁵ Other isolated histological findings are in agreement with this. *Demodex* feeds on epidermal cells,¹⁵ and thus creates breaches in the superficial layers of the follicular epithelium, towards which the infiltrate makes its way, sometimes producing a true *Demodex* folliculitis.³⁵ The fact that *Demodex* has been observed in biopsies from a variety of skin diseases does not conflict with its involvement in rosacea.

The intradermal presence of *Demodex* has been documented by histopathological studies of granulomatous and/or lupoid rosacea. In very rare instances, *Demodex* may make its way through the follicular wall³⁵ and induce in the dermis a granulomatous reaction with giant cells which will phagocytose the parasites.^{20,21} Grosshans found *Demodex* in the granulomas in 10 of 53 patients with lupoid rosacea.²¹ In contrast, Ecker and Winkelmann could find it in only 1 of 30 cases; however, they did not specify whether they performed serial sections in their study.²⁰ The lymphocytes from the

Demodex granulomas and the perifollicular infiltrate of rosacea are of the same type, i.e. T-helper lymphocytes.³⁶ Moreover, anti-*Demodex caprae* antibodies can be found in 22% of patients with PPR and granulomatous rosacea. These antibodies resemble those produced by rabbits sensitized by *D. caprae* antigens.³⁷

In 1965, Robinson studied the mite population in 3-mm punch biopsy specimens from the nasal crease, and did not observe any significant change after 28 days of therapy with a 3% sulphur preparation applied to one half of the face, although there was clinical evidence of a beneficial effect from the treatment.³⁸ As Robinson stated, it was not possible to conclude from the study that treatment with 3% sulphur did not affect the mite counts 'as the method used may not be sufficiently sensitive to detect the difference', because the area sampled was limited to the diameter of the punch (3 mm).

Contrary to the opinion of Marks and Harcourt-Webster,³³ Ramelet and Perroulaz,³⁴ and Robinson,³⁸ other authors are in favour of a role for *D. folliculorum* in rosacea. Large numbers of mites were found in pustules in 50 patients with pustular rosacea,¹⁰ in the dry pityriasis-like erythematosquamous rosacea, and in a dry type of PPR (10–15 *Demodex*/follicular scale),¹⁸ in 16 of 18 patients with rosacea,³⁹ in 9 of 10 patients with rosacea (skin surface biopsies),²⁷ in a pustular folliculitis of the face,²² and in a unilateral rosacea (15 *Demodex*/low-power field, in samples obtained by scraping).⁴⁰ Several studies have demonstrated a decrease in the number of *Demodex* following local treatment (with Danish ointment,¹⁸ with crotamiton,^{22,40} or with hexachlorocyclohexane³⁹), and this decrease was associated with a dramatic clinical improvement.

In 1925, Kaufmann-Wolf studied 50 cases of pustule rosacea and found the mite in samples from the pustules in all cases, but *Demodex* were not more numerous on hairs taken from the lateral area of the face.¹⁰ This finding might be interpreted as indicating that, in pustular rosacea, mite proliferation is only superficial (at the level of the pustule). However, our study demonstrates an increase of *Demodex* in the pilosebaceous follicles, not merely in superficial pustules. This is probably due to the fact that the hairs observed in our skin surface biopsies were taken from areas of PPR, in contrast with those studied by Kaufmann-Wolf.

In 1981 Varotti *et al.*⁴¹ found *D. folliculorum* in all their patients with rosacea ($n=25$), whereas the mite was absent in all their healthy controls ($n=25$). They used a tape-stripping technique which consisted of scraping the skin several times, and collecting the scrapings by means of double-sided adhesive tape stuck on to a microscope

slide. Following treatment with oral metronidazole (500 mg/day for 20 days, followed by 250 mg/day for 20 days), no *D. folliculorum* could be found on the patients' cheeks. The authors suggested that their method could detect the mite only when it was present in large numbers. They were in favour of a role for *D. folliculorum* in the pathogenesis of rosacea.

Our study confirms in a more accurate way that the density of *D. folliculorum* in the rosacea group ($10.8/\text{cm}^2$) is greater than in the control group ($0.7/\text{cm}^2$). The difference is principally determined by the mite density in the PPR group ($12.8/\text{cm}^2$). The density among the ETR patients ($5.1/\text{cm}^2$) is not statistically significantly different from that observed in controls. Such a result may possibly be due to lack of power of the test [resulting from a small number of subjects ($n=13$)]. However, we are inclined to believe that *Demodex* density among the ETR patients is normal, or intermediate between the controls and the PPR patients, in view of the succession of the clinical stages of rosacea. Further studies involving larger numbers of subjects should clarify this point.

The SR patients apparently had larger numbers of *Demodex* ($13.3/\text{cm}^2$) than controls ($0.7/\text{cm}^2$), but because of the limited number of cases we were not able to demonstrate a statistically significant difference.

In practice, it is of value to know the threshold between a 'normal' and 'abnormal' density of *Demodex*, to be able to confirm the clinical diagnosis of PPR. Therefore, on presentation of the results of our study, we arbitrarily chose a threshold of 5 *Demodex*/ cm^2 to obtain a very specific test, with few false-positive results (2%), which therefore becomes less sensitive, i.e. with many false-negative results (45%) [Table 4; Fig. 4]. This is why a density greater than 5 *Demodex*/ cm^2 allows us to confirm the diagnosis of PPR with a positive predictive value of 95%. On the other hand, a density lower than, or equal to 5 *Demodex*/ cm^2 , does not allow us to draw any conclusion, because there is a 25% likelihood that the disease is PPR anyway (negative predictive value = 75%). Some PPR cases have less than 5 *Demodex*/ cm^2 , but it would be too much to hope for a density lower than, or equal to, 5 *Demodex*/ cm^2 in all the controls, and above 5 *Demodex*/ cm^2 in all the cases of papulopustular rosacea, as there is no such perfect test in biology. This is probably due to the multifactorial nature of rosacea. The clinical picture of rosacea depends not only on *Demodex* density, but also, for example, on the inflammatory reaction induced by the mite: it is possible that this reaction varies from individual to individual, each subject responding to their own *Demodex* density threshold.

Finally, such a test compares PPR patients with

healthy controls, and before it can be used as a differential diagnostic tool in PPR, the *Demodex* densities in other facial dermatoses clinically similar to PPR require study, particularly lupus erythematosus, in order to verify whether they equate with those of controls. Moreover, it would be useful for the proposed threshold density to be validated by other studies on larger patient samples.

From a pathogenetic standpoint, the higher *Demodex* density observed only in PPR suggests, although it does not prove, that *Demodex* plays a role in the formation of the papules and pustules of rosacea only at this stage of the disease (stage III), and not before. This would be compatible with the present concept of the pathogenesis of rosacea, in which the disease is considered as a 'primarily' venous vascular functional disease of the face, possibly originating in poor blood flow control by the central nervous system.^{42,43} The vascular changes probably create an environment which favours the multiplication of *Demodex* and/or their penetration into the dermis, and this would then induce macroscopically visible inflammation in the form of papulopustules: such an hypothesis was suggested by Spickett in 1962.⁴⁴ However, the multiplication of *Demodex* and/or their penetration into the dermis may occur independently of predisposing vascular factors, thus leading to the formation of IIP. Indeed, two of the four patients with IIP had a high *Demodex* density (17 and $8/\text{cm}^2$), which suggests that the mite may induce an inflammatory response which falls outside the clinical scope of rosacea, as has already been reported.^{7,8,13,21,24,35} In our group of IIP patients, however, the mean *Demodex* density was not statistically different from that of controls; this is probably due partly to the small size of the IIP sample, and partly to the fact that IIP may have many other causes than *Demodex*.

Demodex folliculorum density does not appear to be higher in cases of rhinophyma (mean = $0/\text{cm}^2$), but there were only three cases of rhinophyma in our study. Clinically, rhinophyma differs markedly from rosacea, and it can develop in the absence of papulopustules. Moreover, it principally affects male patients. It is however, considered as stage IV of the disease. Perhaps it is a different, although closely related, disease. It is also possible that rhinophyma might be more readily associated with a proliferation of *D. brevis* rather than *D. folliculorum*; the absence of *D. brevis* in our study would then be directly related to the technique used.

We did not find any increase of *Demodex* density in the group of patients with HIV infection compared with controls.

The findings of the present study should be confirmed in a larger patient group, particularly with regard to patients with ETR, SR, and controls from an older age-group. A similar study should also be carried out on other facial dermatoses. Standardized skin surface biopsy could be used to monitor the evolution of *Demodex* density in rosacea during treatment, for example with topical metronidazole or crotamiton (Eurax®), each patient serving as their own control, by comparison of treated and untreated sides of the face.

Standardized skin surface biopsy may also be utilized for the study of other dermatological diseases in which it has been suggested that *Demodex* may play a pathogenic role, for example perioral dermatitis,^{39,45,46} and Grover's disease.⁴⁷

This study supports the pathogenic role of *D. folliculorum* in PPR and suggests the use of a standardized skin-surface biopsy as a diagnostic tool for the disease. A diagnosis would be considered positive when the density of *Demodex* is above 5/cm².

Acknowledgments

We thank Professor G.Achten, Professor M.Ledoux, Professor J.M.Lachapelle, Professor N.Clumeck, Dr J.De Maubeuge, Dr D.Tennstedt, Dr J.André, Dr M.Bernard, Dr J.J.Stene, Dr S.De Rijcke, and Dr H.Lenain, for their help and advice during the course of this study.

References

- Norn MS. *Demodex folliculorum*: incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull* 1971; 18: 14-17.
- Desch C, Nutting WB. *Demodex folliculorum* (Simon) and *D. brevis* Akbulatova of man: redescription and reevaluation. *J Parasitol* 1972; 58: 169-77.
- Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; 15: 79-98.
- Desch CE, Nutting WB. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia* 1977; 19: 422-62.
- Du Bois. Recherche du *Demodex folliculorum* hominis dans la peau saine. *Ann Dermatol Syph* 1910; 1: 188-90.
- Norn MS. *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol* 1970; Suppl. 108: 1-85.
- Roth AM. *Demodex folliculorum* in hair follicles of eyelid skin. *Ann Ophthalmol* 1979; 11: 37-40.
- Aylesworth R, Vance JC. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 583-9.
- Andrews JRH. The prevalence of hair follicle mites in Caucasian New Zealanders. *N Z Med J* 1982; 95: 451-3.
- Kaufmann-Wolf M. Über regelmässiges Vorkommen von *Demodex folliculorum* in den Pusteln von Rosacea pustulosa. *Dermat Wochenschr* 1925; 81: 1095-103.
- Fuss F. La vie parasitaire due *Demodex folliculorum* hominis. *Ann Derm Syph (Paris)* 1933; 4: 1053-62.
- Beerman H, Stokes JH. Rosacea complex and *Demodex folliculorum*. *Arch Dermatol Syphilol* 1934; 29: 874-84.
- Breckenridge RL. Infestation of the skin with *Demodex folliculorum*. *Am J Clin Pathol* 1953; 23: 348-52.
- Riechers R, Kopf AW. Cutaneous infestation with *Demodex folliculorum* in man. *J Invest Dermatol* 1969; 52: 103-6.
- Nutting WB, Green AC. Pathogenesis associated with hair follicle mites (*Demodex* spp.) in Australian Arborgines. *Br J Dermatol* 1976; 94: 307-12.
- Norn MS. Incidence of *Demodex folliculorum* on skin of lids and nose. *Acta Ophthalmol* 1982; 60: 575-83.
- Sengbusch HG, Hauswirth JW. Prevalence of hair follicle mites, *Demodex folliculorum* and *D. brevis* (Acari: Demodicidae), in a selected human population in western New York, USA. *J Med Entomol* 1986; 23: 384-8.
- Ayres S Jr, Ayres S 3d. Demodectic eruptions (Demodicosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; 83: 816-27.
- De Dulanto F, Camacho-Martinez F. Demodicidose 'gravis'. *Ann Dermatol Venereol* 1979; 106: 699-704 (Fre).
- Ecker RI, Winkelmann RK. *Demodex* granuloma. *Arch Dermatol* 1979; 115: 343-4.
- Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. *Demodex folliculorum* und die Histogenese der granulomatösen Rosacea. *Hautarzt* 1974; 25: 166-77.
- Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 1159-62.
- Miskjian HG. Demodicosis (*Demodex* infestation of the scalp). *Arch Dermatol* 1951; 63: 282-3.
- Seifert HW. *Demodex folliculorum* als Ursache eines solitären tuberkuloiden Granuloms. *Z Hautkr* 1977; 53: 540-2.
- Post CF, Juhlin E. *Demodex folliculorum* and blepharitis. *Arch Dermatol* 1963; 88: 298-302.
- Marks R, Dawber RPR. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; 84: 117-23.
- Hojyo Tomoka MT, Dominguez Soto L. Demodecidosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cutan Iber Lat Am* 1976; 2: 83-90.
- Bøge-Rasmussen T, Christensen JD, Gluud B et al. *Demodex folliculorum* hominis (Simon): incidence in a normomaterial and in patients under systemic treatment with erythromycin or glucocorticoid. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1982; 62: 454-6.
- Sato Y, Higuchi H, Saito U. Demodectic eczematoid eruption on the face of a boy receiving a long-term corticosteroid treatment. *Jpn J Dermatol* 1965; 75: 331.
- Siegel S, Castellan NJ. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*, 2nd edn., Singapore: McGraw-Hill International, 1988; 137-44, 235-44.
- Lellouch J, Lazar P. *Méthodes Statistiques en Expérimentation Biologique*, 1st edn. Paris: Flammarion, 1974; 51-2.
- Spickett SG. Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). I. Life history. *Parasitology* 1961; 51: 181-92.
- Marks R, Harcourt-Webster JN. Histopathology of rosacea. *Arch Dermatol* 1969; 100: 683-91.
- Ramelet A-A, Perroulaz G. Rosacée: étude histopathologique de 75 cas. *Ann Dermatol Vénérolog* 1988; 115: 801-6.
- Forton F. *Demodex* et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol* 1986; 113: 1047-58 (Fre) (Eng Abstr).
- Ruffli T, Büchner SA. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of *Demodex folliculorum*. *Dermatologica* 1984; 169: 1-5.

- 37 Grosshans E, Dangler T, Kien TT, Kremer M. *Demodex folliculorum* und Rosacea: experimentelle und immunologische Studien. *Z Hautkr* 1980; 55: 1211-18.
- 38 Robinson TWE. *Demodex folliculorum* and rosacea. *Arch Dermatol* 1965; 92: 542-4.
- 39 Ruffli T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S. *Demodex folliculorum*: zur Ätiopathogenese und Therapie der Rosacea und der perioralen Dermatitis. *Dermatologica* 1981; 162: 12-26 (Ger) (Eng Abstr).
- 40 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 915-17.
- 41 Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. *Demodex folliculorum* ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol* 1981; 116: 489-91.
- 42 Brinzel H, Friedel J, Caputa M *et al*. Rosacea: disturbed defense against brain overheating. *Arch Dermatol Res* 1989; 281: 66-72.
- 43 Grosshans E. La rosacée. *Presse Med* 1988; 17: 2393-8 (Fre) (Eng Abstr).
- 44 Spickett SG. Aetiology of rosacea. *Br Med J* 1962; i: 1625-6. (Eng Abstr).
- 45 Marks R, Black MM. Perioral dermatitis: a histopathological study of 26 cases. *Br J Dermatol* 1971; 84: 242-7.
- 46 Ramelet AA, Delacrétaz J. Etude histopathologique de la dermatite périale. *Dermatologica* 1981; 163: 361-9. (Fre) (Eng Abstr).
- 47 Lindmaier A, Jurecka W, Lindemayr H. Demodicosis mimicking granulomatous rosacea and transient acantholytic dermatosis (Grover's disease). *Dermatologica* 1987; 175: 200-4.

Nous avons ainsi pu montrer que la **densité en Demodex était plus élevée dans la peau des patients avec RPP que chez les contrôles sains**, ce qui a été confirmé simultanément par Bonnar, Eustace et Powell,²²⁴ et ensuite à de multiples reprises, avec notre technique^{223,342,343,536} ou par pression simple (nombre de Demodex/champ microscopique),³⁴⁴ par microscopie confocale,^{229,240,345} par PCR²¹³ et également par deux méta-analyses.^{346,537}

Nous avons proposé une valeur seuil permettant de délimiter objectivement les densités normales et anormales de Demodex, liée à cette méthode (> 5 Demodex/cm²), avec une **valeur normale ≤ 5 D/cm²**, valeur qui a ensuite été confirmée ou/et adoptée par d'autres.^{69,129,234,237,243,252,257,259,262,285,292,538-542}

Accessoirement, comme certains prétendaient que les démodécies se développaient essentiellement chez les patients immunodéprimés, nous avons testé, avec leur accord, quelques malades hospitalisés à l'hôpital Saint-Pierre dans le cadre de leur syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), et n'avons pas mis en évidence de différence de densité moyenne significative par rapport aux témoins. Par la suite, respectivement en 2004 et en 2005, en utilisant la SSSB, Seyhan *et al* ont observé plus de patients avec « Dd ≥ 5/cm² » parmi leurs patients avec cancers hématologiques que chez les contrôles (4/50 versus 0/50) (p < 0,001),²⁵² et Karıncaoglu *et al*, une Dd plus élevée chez les patients avec insuffisance rénale au stade terminal (avec immunodépression liée à la maladie) que chez leur contrôles (6,12D/cm² versus 0,31 D/cm² (p < 0,001)).²⁵⁹

Cette méthode d'échantillonnage est rapide et simple, reproductible, peu invasive, bien tolérée par les patients, peu coûteuse et donc facilement accessible à tous les dermatologues.^{69,126,543} Cependant, sa sensibilité n'est pas très élevée (55 %) et elle ne détecte que très occasionnellement la présence de *D brevis*, situé la plupart du temps au sein de la glande sébacée, trop profondément pour être prélevé par la SSSB.

3.2.1. Comparaisons avec d'autres méthodes

La SSSB est devenue progressivement la méthode de référence pour mesurer la Dd^{22,221,222,237,245,257,262,275,285,292,343,536,541,542,544-548} et **d'autres méthodes lui ont été comparées** :

- Le placement d'un **scotch** pour prélever les Demodex par simple adhérence est moins sensible que la SSSB, de même que le **raclage** ;⁵⁴⁴
- **L'examen direct au microscope** (Direct Microscopy Examination (DME)) (Fig. 70 en haut), technique moins sensible que la SSSB (Dd retrouvées environ 10 fois moindres) ;⁵³⁹ mais si un tire comédon est utilisé, elle devient plus sensible que la simple SSSB (Dd environ 3 fois plus élevées).⁵⁴⁹ Une variante en est la méthode **par pression de l'ongle** (Thumbnail-squeezing method (TSM)) (Fig. 70 en bas),⁵⁵⁰ qui semble être plus sensible que la simple SSSB,⁵⁵⁰ mais moins sensible que la double SSSB,²¹² que nous avons développée plus tard (§ 4.1.4.).

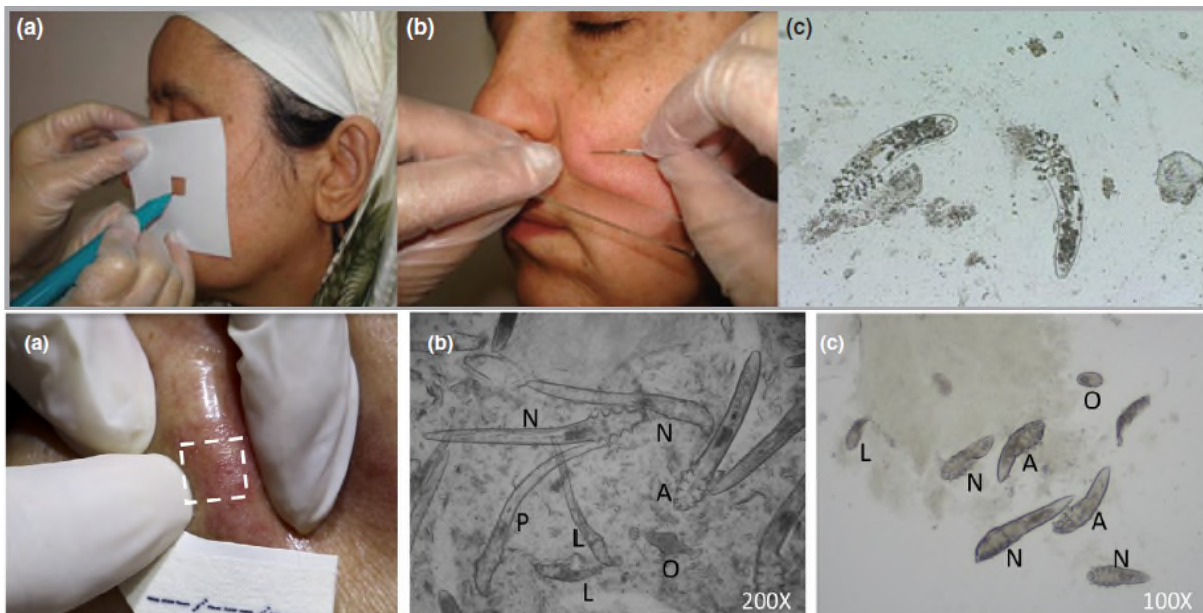


Fig. 70. Méthodes incluant une expression du contenu folliculaire vers la surface avant récolte.

En haut : Examen direct au microscope : le contenu des follicules est extrait par pression de la peau entre le pouce et l'index sur une surface d'un cm² puis récolté en râclant la surface avec une **lame de bistouri** retournée.

En bas : Méthode par pression de l'ongle : un film plastique, avec une fenêtre d'un cm², est collé sur la joue du patient, une goutte d'**huile** y est déposée, puis la peau est **pincée** d'une main tandis qu'un racalge est effectué avec un **ongle** de l'autre main (recouverte d'un gant), pour en extraire le contenu des follicules, qui est récolté et l'examiné. Figures reproduites respectivement depuis « Aşkin U *et al.* Comparison of the Two Techniques for Measurement of the Density of *Demodex Folliculorum*: Standardized Skin Surface Biopsy and Direct Microscopic Examination. *Br J Dermatol.* 2010; 162(5):1124-6 » (haut)⁵³⁹ et « Huang H-P, Hsu C-K, Lee JY-Y. Thumbnail-squeezing method: an effective method for assessing Demodex density in rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2020; 34: e343-e345 » (bas).⁵⁵⁰

- La **microscopie confocale** est plus sensible que la SSSB simple (densités 10 fois plus élevées),^{544,551} et d'une sensibilité similaire à la double SSSB²¹² (§ 3.10. et 4.2.2.).

3.2.2. SSSB et autres dermatoses

Plusieurs études ont ensuite utilisé la SSSB pour comparer la Dd de **différentes dermatoses** :

- en 2006, Okyay *et al* ont observé une densité similaire entre patients atteints et non atteints d'**acné** : respectivement $0,2 \pm 0,5$ D/cm² versus $0,7 \pm 1,5$ D/cm² ($p=0,101$).⁵⁴⁷
- en 2019, Zeytun et Yazici observent une prévalence plus élevée de l'infestation ($Dd > 5$ D/cm²) chez les patients atteints d'acné que chez ses contrôles (62,4% vs 16,7% ; $p < 0,001$) et, au sein des personnes infestées, ils observent une densité en *D folliculorum* plus élevée chez les patients atteints d'acné que chez les contrôles. Par ailleurs, l'infestation tend à augmenter avec la gravité de l'acné (avec différence non statistiquement significative), surtout en ce qui concerne le *D brevis*. Celui-ci n'est retrouvé que chez 4% des contrôles sains infestés (1/25), alors qu'il est retrouvé chez 20% des patients avec acné infestés (26/131).⁵⁴⁸
- en 2009, Karıncaoglu *et al* trouvent une Dd plus élevée chez les patients avec **dermatite séborrhéique** que chez les contrôles ($8,2 \pm 10,1$ D/cm² vs $1,2 \pm 2,2$ D/cm²).⁵³⁸
- en 2015, Tas *et al* observent une prévalence plus élevée d'infestation chez les patients atteints de rosacée que chez ceux atteints de dermatite séborrhéique (75% versus 25%, $p = 0,0001$), et une plus grande prévalence parmi les patients avec RPP qu'avec RET quoique statistiquement non significative (53% versus 8%). A noter qu'ils considèrent qu'il y a infestation si la $Dd \geq 5$ D/cm² (à la place de « $Dd > 5$ D/cm² »),⁵⁵²
- En 2010, Lazaridou *et al* confirment la plus haute Dd en cas de **rosacée** ($2,2 \pm 1,6$ D/cm² ; $n=100$: 38 RET+ 56 RPP + 6 rosacées phymateuses) que chez les contrôles sains ($0,3 \pm 0,7$ D/cm² ; $n=100$), et que chez les patients atteints d'**acné** ($0,4 \pm 0,8$ D/cm² ; $n=100$) ou de **lupus érythémateux chronique** ($0,3 \pm 0,7$ D/cm² ; $n=50$) ($p < 0,0001$ chaque fois).⁴⁴¹ Cette étude confirme accessoirement **la plus grande sensibilité de la SSSB par rapport à la biopsie classique** : chez ses patients atteints de rosacée, la prévalence du parasite est de 84% avec la SSSB, et seulement 32% avec la biopsie classique.⁴⁴¹ Cette faible sensibilité de la biopsie classique pour la détection du Demodex est retrouvée dans une autre étude (33%), qui montre malgré tout une plus grande prévalence d'infestation par le Demodex (sans autre précision) (9/27 vs 1/30 ; $p = 0,0064$) et de l'hyperplasie sébacée (8/27 vs 0/30 ; $p = 0,0029$) dans la rosacée que dans le **lupus érythémateux chronique**.³⁵⁶
- En 2015, Talghini *et al* confirment la plus haute Dd en cas de **RPP**, et trouvent une Dd similaire entre les contrôles et les patients avec **carcinome basocellulaire**,

épidermoïde et lupus érythémateux chronique, tandis qu'ils trouvent une Dd inférieure dans la peau des patients atteints de **mélanome** (sur la joue).⁵³⁶

3.2.3. Autres techniques et autres dermatoses

En 2004, Akilov et Mumcuoglu utilisent **une autre technique** (expression du sébum) mais utilisent arbitrairement **la même valeur limite** ($>5 \text{ D/cm}^2$), pour confirmer leur diagnostic clinique de démodécie.²⁶⁴ En 2011, Zhao *et al* font de même pour établir le statut d'infestation et trouvent une association entre l'infestation $>5 \text{ D/cm}^2$ et **rosacée, dermatite séborrhéique, dermite irritative et rosacée stéroïdienne, mais pas avec la dermite de contact ni l'acné vulgaire**.¹²⁹ Mais, en 2012, sur base d'une **méta analyse**, ils concluent que **l'acné vulgaire** est associée à l'infestation par le Demodex.¹²⁸

Une autre étude utilise la pression simple avec un scotch et trouve une prévalence similaire en cas de présence ou d'absence, respectivement, de **dermatite séborrhéique et de dermatite atopique**.²¹¹

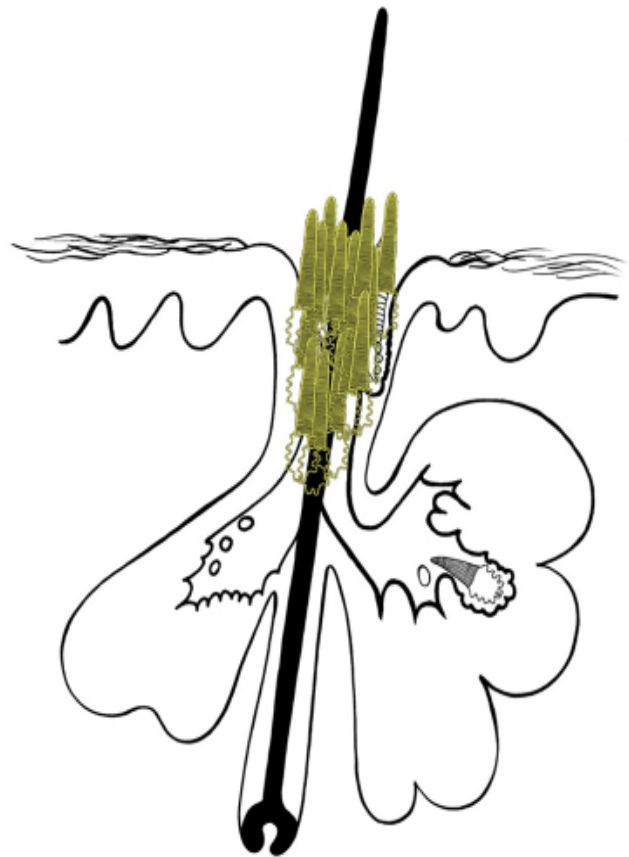
En 2015, Lacey *et al* ont modifié la méthode pour l'utiliser en recherche fondamentale et ont baptisé cette variante « Modified SSSB » (**MSSSB**) : sans huile d'immersion, ni lamelle couvre objet, usage d'un stéréomicroscope, repérage plus précis (grille qui divise le cm^2 en 9 plutôt qu'en 4 et repères sur le front).⁶⁹

3.3. 1998 : SSSB & faux négatif⁴⁹

Au cours de nos consultations, nous avons rencontré un patient chez qui nous étions certaine de trouver une densité élevée en Demodex, et chez qui, très étonnamment, nous n'en avons trouvé aucun à la SSSB. Le patient s'était dépêché pour être à l'heure à son rendez-vous et avait transpiré. Nous avons alors eu l'idée de refaire un prélèvement supplémentaire au même endroit, et ceci plus d'une fois, et avons publié cette observation sous forme d'un case report particulièrement instructif, car nous avons finalement trouvé un nombre incroyablement élevé de parasites en additionnant les couches successives.

Les D peuvent donc être dispersés tout le long des follicules (Fig. 71), et une seule SSSB ne prélève pas tout le contenu de l'infundibulum pileaire, mais n'en prélève que l'étage supérieur : il faut pratiquer plusieurs SSSBs successives pour prélever tous ou quasi tous les Demodex présents dans les infundibulums pileaires.

Fig. 71. Représentation schématique de nombreux *Demodex folliculorum* dispersés sur plusieurs étages le long d'un canal folliculaire.



Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report

F.FORTON AND M.SONG*

Rue E.Binjé 8, B-1030 Brussels, Belgium

*Clinic of Dermatology, Université Libre de Bruxelles, Saint Pierre University Hospital, Boulevard de Waterloo 129, B-1000 Brussels, Belgium

Accepted for publication 3 May 1998

Summary

Standardized skin surface biopsy (SSSB) is an appropriate method for measuring the density of *Demodex folliculorum* (Dd). Nevertheless, the observation of a clinical case demonstrates that, contrary to what was presumed before, a single SSSB can fail to collect the complete biotope of the mite. This could give rise to false negative results regarding the measurement of Dd.

Demodex folliculorum is a 0.3 mm long transparent mite¹ which asymptotically parasitizes normal skin, with a prevalence of 100%^{2–5} and a density ≤ 5 mites/cm².⁴ It is usually considered to play a pathogenic role when it multiplies^{3–11} (Fig. 1, Table 1) and when, rarely, it penetrates the dermis. Its life-cycle takes place in the pilosebaceous follicle: copulation occurs in the opening of the follicle; the gravid female then makes her way into the sebaceous gland, in which the egg is deposited; the egg becomes a larva then a protonymph in the sebaceous canal and is then carried to the opening of the follicle by the flow of sebum. The protonymph gives rise to a deutonymph, which crawls on to the skin surface, then enters a follicle to become an adult.¹²

Skin surface biopsy (SSB) is a non-invasive sampling method by which it is possible to collect the superficial part of the horny layer and the contents of the pilosebaceous follicle.^{7,13} It appears ideal for collecting and studying *D. folliculorum*,⁷ because the sample obtained by SSB equates to the biotope of the mite. During the course of our study on potential acaricides against *D. folliculorum*,¹⁴ we observed a clinical case which demonstrates that, contrary to what was presumed before,^{4,15} SSB can fail to collect the complete biotope of *D. folliculorum*.

SSB consists of placing a drop of cyanoacrylic adhesive (Loctite®) on a microscope slide, applying the adhesive-bearing surface of the slide to the skin, and removing it gently after it has been allowed to dry (about 1 min).^{7,13} Initially, a standard surface area of 1 cm² is drawn on the slide with a waterproof pen, traced after putting the slide down on a sheet of standard square paper: this SSB, on a standardized

surface of 1 cm², is called standardized SSB (SSSB) (Fig. 2b).^{4,14} After removal from the skin, the sample is clarified with two to three drops of immersion oil, and then covered with a cover slip. The sample is studied microscopically at standard magnifications ($\times 40$, $\times 100$). The number of mites counted on the surface area of 1 cm² gives the density of *D. folliculorum* (Dd).

Case report

A 66-year-old man presented with erythematotelangiectatic rosacea and pityriasis folliculorum *Demodex* (PFD): dry scales, fine and whitish, forming follicular plugs with a typical frosted appearance and rough texture (sandpaper-like consistency on palpation) (Fig. 2a).^{6,16} SSSB on the cheek revealed 148 mites/cm² in October 1994, and 75 mites/cm² in March 1995. At this time, the patient was enrolled in our study on topical acaricides;¹⁴ he was later excluded because he was treated by inhalation for a common cold. He was re-included in October 1995; a SSSB was performed on day 0: no *D. folliculorum* mites were seen. However, from a clinical point of view, he was still presenting typical PFD. As a false negative result (FN) was suspected, three other SSSBs were successively performed at the same place and showed a total Dd of 1056 mites/cm² (181 + 551 + 324). A fifth SSSB was not performed as it would have provoked bleeding of the skin.

Tests were repeated and photographs taken in October 1997 (Fig. 2c,d). At this time, five successive SSSBs could be performed at the same place without provoking bleeding; they revealed a total Dd of 1154 mites/cm² (24 + 269 + 499 + 317 + 45). The density of the eggs was 17 eggs/cm² (1 + 6 + 9 + 1 + 0).



Figure 1. *Demodex folliculorum* in a skin surface biopsy: at least seven mites are seen in a single follicle. One mite is higher up than the others, as it was at a deeper level inside the skin (original magnification $\times 100$).

Discussion

SSSB appears to be an appropriate method for measuring Dd: it does not induce any bleeding and enables analysis of an important part of the *D. folliculorum* biotope. The surface of the sample is large (1 cm^2) and deep (infundibula), contrary to traditional biopsy which, besides being invasive, analyses only a very small sample of the *D. folliculorum* biotope.⁴ SSSB is accurate and can be reproduced. It enables comparisons to be made by different investigators (Table 1).^{4,5,17}

In the first description of SSSB, the sample surface was standardized using a preprinted circle, 11.5 mm in diameter.⁴ We later used an alternative technique which was slightly less rigorous as the limits of the sampling area were manually traced by transparency (Fig. 2b).¹⁴ This technique is less expensive and more practical; it is more likely to be used by dermatologists in

daily practice. Nevertheless, the present case revealed a previously unsuspected limitation of this method: an SSSB can take no mites even when their density is extremely high (at least 1056 mites/cm^2). This FN at the first SSSB is probably due to a bad adherence of the mites to the slide, as they are protected from contact with the glue by a layer of horny scraps or by a layer of sebum.

The FN in the detection of *D. folliculorum* is probably rare because stability of the Dd has been observed. Bonnar *et al.* found that Dd remained stable over time: the mean Dd measured in a control group ($n = 42$) and in a rosacea group ($n = 42$) did not differ over a 1-month interval.⁵ Our experience generally confirms this observation. This stability and the usually very high Dd found in PFD were precisely the reasons why we performed a second SSSB in this case. Moreover, not all *D. folliculorum* mites were taken with the first or the second SSSB: they were still present at the fourth and fifth SSSBs, which were performed at the same place. The successive mite densities seem to fit a Gaussian distribution: in the two observations in October 1995 and October 1997, the greatest Dd was observed at the third SSSB (551 and 499, respectively). Because the Dd decreased at the fourth and fifth SSSBs, we consider that we collected nearly all the *D. folliculorum* mites from this sample area.

The successive SSSBs collected the mite population in successive slices: the follicle contents broke due to the traction resulting from the SSSB, probably because they were elongated by mites and follicular hyperkeratosis. The successive SSSBs were made without bleeding or pain in our patient. This is not always possible: in patients with thin skin, a second SSSB would probably provoke bleeding.¹⁴ Eggs, which are known to be deposited deeper in the follicle,¹² are commonly observed on SSSB:¹⁴ the sampling given by the first SSSB is thus usually deep enough.

In our view, in hyperkeratotic skin, the mites sampled by the first SSSB, even if numerous, still represent a small proportion of the mites present; these are congregated, level after level, in elongated

First author/ reference		<i>Demodex</i> density in groups of subjects (mites/cm ²)			
		Localization	Rosacea	Healthy skin	Immunosuppressed
Bonnar ⁵	1993	face	4.7 (42)	1 (42)	
		cheeks	8 (42)	2 (42)	
Forton ⁴	1993	cheeks	10.8 (49)	0.7 (45)	0–1.8 (21)
Aydingöz ¹⁷	1996	face		0.55 (30)	0 (30)

Table 1. Standardized skin surface biopsy appears to be an appropriate method for measuring *Demodex folliculorum* density: it enables comparisons to be made by different investigators. *Demodex* density (mites/cm²) in rosacea, healthy controls and immunosuppressed subjects. (*n*): number of subjects in the group

and hyperkeratotic follicles. So, the real Dd in cheeks of patients with rosacea is probably higher than the 8 or 10·8 mites/cm² measured at the first SSSB.^{4,5} In normal or thin skin, the SSSB, poor or rich in *D. folliculorum*, probably collects nearly all the mite population. This hypothesis could be verified by future studies using successive SSSBs until the appearance of sub-bleeding, in variable clinical patterns. In studies using SSSB to observe the potential acaricide action of a treatment, it seems important that clinical pictures are homogeneously distributed by randomization, to obtain comparable groups.

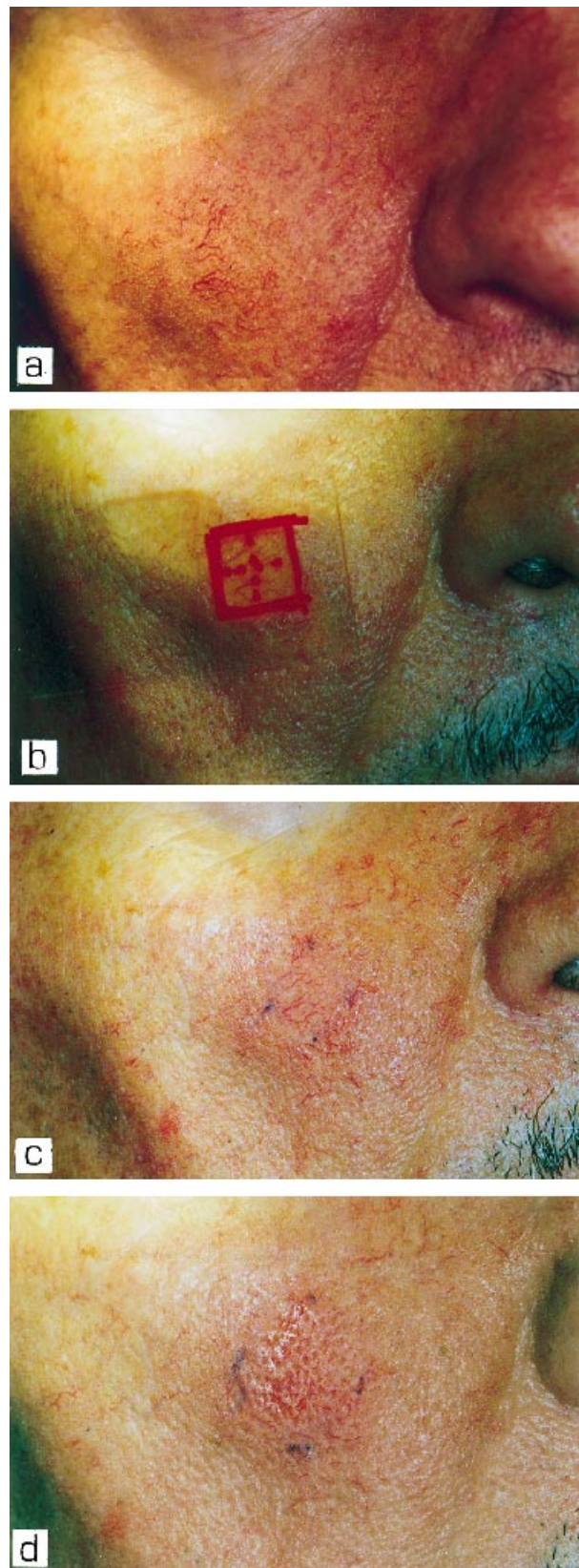
Since the end of our last study,¹⁴ we clean the skin and the slide with ether before we perform a SSSB, to improve adherence and to standardize the variable intensities of seborrhoea, which could affect adherence. This modification of the SSSB could lead to revision of the previously established reference values for Dd in rosacea and healthy skin.^{4,5}

In conclusion: (i) the real Dd can be very high in the facial skin: 1154 mites/cm² or more, with the mites congregated on many levels; (ii) at least in these cases, a single SSSB fails to collect the complete biotope of the *D. folliculorum*, but collects only the superficial part of it (the sampling obtained is probably superficial and partial as the follicles are elongated and hyperkeratotic); (iii) FNs can occur in the detection of *D. folliculorum* by SSSB, but are probably rare (it appears useful to perform a second SSSB at the same place when an abnormally high Dd is clinically suspected and no or almost no mite is found in the first SSSB); and (iv) systematically cleaning the skin and the slide with ether prior to sampling could improve the validity of the SSSB.

Acknowledgments

We thank Dr J. André, Dr B. Seys and Mrs C. Leen for their suggestions and/or logistic support during the course of this study.

Figure 2. The cheek of the patient with pityriasis folliculorum *Demodex*. (a) Appearance before standardized skin surface biopsy (SSSB): dry scales, fine and whitish, forming follicular plugs with a typical frosted appearance and rough texture (sandpaper-like consistency on palpation). This clinical feature appears here on an erythematotelangiectatic rosacea. (b) SSSB: a slide with, on the skin side, a drop of cyanoacrylic adhesive and, on the other side, a square of 1 cm per side, drawn with a waterproof pen, is applied to the skin. The area of 1 cm² is divided into four equal squares to make counting of the parasites easier. (c) The appearance of the skin after one SSSB. (d) The appearance of the skin after five SSSBs at the same place: the horny layer has disappeared and a sixth SSSB would probably provoke bleeding.



References

- 1 Desch CE, Nutting WB. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977; **19**: 422-62.
- 2 Norn MS. *Demodex folliculorum*: incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull* 1971; **18**: 14-7.
- 3 Burns DA. Follicle mites and their role in disease. *Clin Exp Dermatol* 1992; **17**: 152-5.
- 4 Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650-9.
- 5 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443-8.
- 6 Ayres S Jr, Ayres S III Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816-27.
- 7 Hojyo T, Dominguez L. Demodicosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cut Iber Lat Am* 1976; **2**: 83-90.
- 8 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915-17.
- 9 Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. *Demodex folliculorum* ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol* 1981; **116**: 489-91.
- 10 Spickett SG. Aetiology of rosacea. *Br Med J* 1962; **9**: 1625-6.
- 11 Forton F. *Demodex* et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**: 1047-58.
- 12 Spickett SG. Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). I. Life history. *Parasitology* 1961; **51**: 181-92.
- 13 Marks R, Dawber RPR. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; **84**: 117-23.
- 14 Forton F, Seys B, Marchal JL, Song M. *Demodex folliculorum* and topical treatments: acaricide action evaluated by standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 461-6.
- 15 Rulli T, Mumcuoglu Y. The hair follicle mites *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis*: biology and medical importance. *Dermatologica* 1981; **162**: 1-11.
- 16 Dominey A, Tschen J, Rosen T et al. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 81-4.
- 17 Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. *Demodex folliculorum* in renal transplant patients. *Dermatology* 1997; **195**: 232-4.

Pour éviter les faux négatifs, nous avons ainsi proposé de **dégraisser** systématiquement la peau et la lame porte-objet à **l'éther** avant de pratiquer la SSSB (Fig. 72), et de pratiquer systématiquement **une 2° SSSB** au même endroit, donc plus profonde, immédiatement après la première. Cette approche a depuis été utilisée par d'autres auteurs.^{69,275,540}

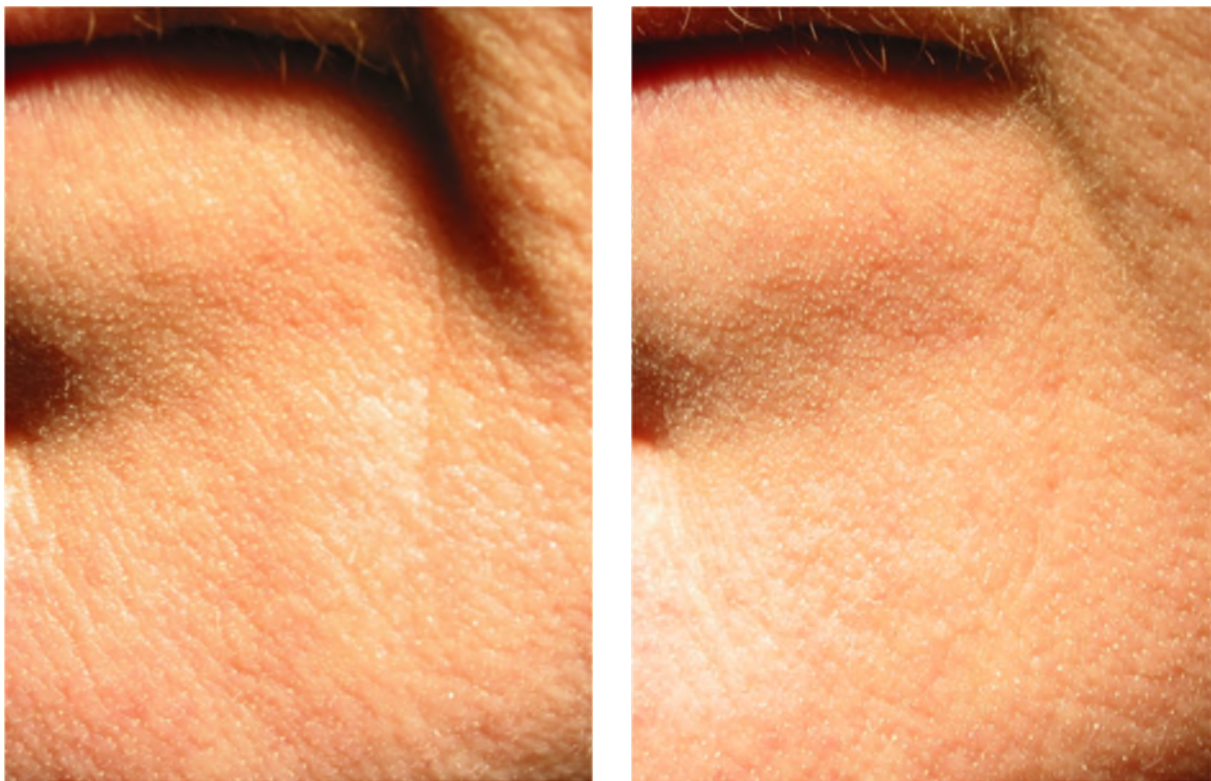


Fig. 72. Partie gauche du menton d'un patient atteint de pityriasis folliculorum : (a) avant et (b) après dégraissement à l'éther.

Depuis lors, une revue plus approfondie de la littérature nous a montré que, en fait, nous n'avions fait que redécouvrir ce que d'autres avaient déjà compris depuis bien longtemps :

- En effet, **en 1910, Du Bois**, qui mettait les parasites en évidence par simple pression au niveau du nez, insistait déjà pour **recommencer la manœuvre** au même endroit, car un unique prélèvement se révélait parfois faussement négatif.³⁶

- Et, déjà **en 1967, Coston** avait constaté que le passage à **l'éther** (ou avec d'autres substances hautement volatiles) faisait activement **ressortir les parasites des follicules** (Fig. 73). Sans le savoir, le passage à l'éther a donc rendu notre méthode plus sensible, non seulement par une manœuvre de nettoyage/dégraissage, mais aussi, ce que nous ignorions, en stimulant vraisemblablement l'ascension des parasites hors de leur habitat. Cette manœuvre était tellement efficace que Coston s'en servait à l'époque **pour traiter les blépharites à Demodex** : 5 à 10 minutes après un passage à l'éther, il nettoyait les parasites sortis avec un passage à l'alcool 60°, 1x/semaine pendant 3 semaines, combiné aux soins locaux du patient à la maison.⁴ Et il avait aussi constaté la même efficacité de ce double passage éther/alcool sur une démodécie cutanée !⁴

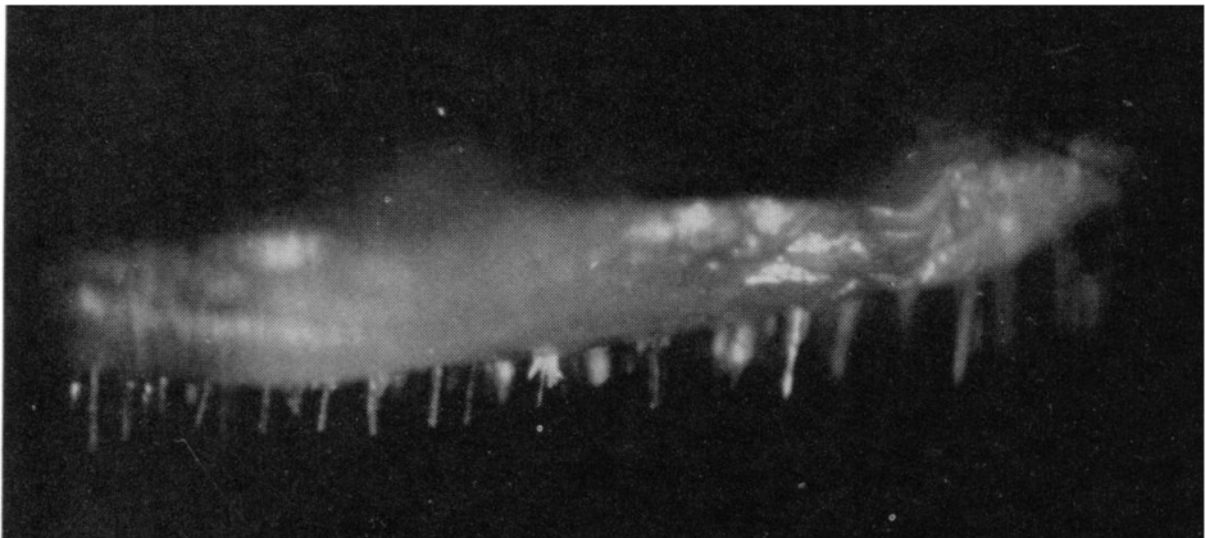


Fig. 73. Demodex émergent des orifices ciliaires suite au passage à l'éther.

Photographie reproduite depuis « Coston TO. *Demodex folliculorum* blepharitis. Trans Am Ophthalmol Soc 1967; 65: 361-392 ».⁴

3.4. 1998 : Acaricides topiques²⁶⁸

A l'époque, et encore actuellement pour la majorité des dermatologues, la rosacée était considérée comme une maladie mystérieuse, chronique, d'origine inconnue, d'évolution récidivante et était traitée de façon symptomatique par des anti-inflammatoires (tétracyclines, métronidazole).

Ayant appris que l'anatomie de ce parasite était faite pour manger nos cellules, ayant constaté que le Demodex pouvait traverser la paroi folliculaire et que les follicules infestés étaient plus souvent enflammés, ayant vérifié que les patients atteints de RPP avaient une plus haute Dd que les patients sains, nous étions déjà personnellement convaincue que tout cela se tenait, et que les Demodex étaient à l'origine de la rosacée.

Et donc, comme l'avait déjà préconisé Spickett en 1962,²⁹ nous avons voulu traiter nos patients atteints de rosacée (ou de démodécie), non plus de façon symptomatique, mais bien avec un acaricide local actif sur le parasite.

L'usage d'acaricides locaux avait été occasionnellement rapporté dans des « cases reports » concernant des patients atteints de démodécie, mais ces acaricides n'avaient jamais été comparés entre eux. Nous avons voulu identifier l'acaricide le plus efficace, non seulement dans l'intérêt du patient, mais aussi par précaution : cette pratique était tout à fait inhabituelle à l'époque, et nous travaillions en cabinet privé, en dehors du milieu universitaire.

Dans une petite étude pilote randomisée, avec le concours du pharmacien du quartier, qui a effectué les préparations à notre demande et à nos frais, nous avons testé les traitements les plus « prometteurs » d'après la littérature. Nous les avons comparés au traitement de référence de la rosacée quant à leur action sur la densité en Demodex.

Demodex folliculorum and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy

F.FORTON, B.SEYS, J-L.MARCHAL* AND M.SONG†

Rue E.Binjé 8, B-1030 Brussels, Belgium

*E.Willemslaan 9, B-3150 Wespelaar, Belgium

†Clinic of Dermatology, Saint Pierre University Hospital, Université Libre de Bruxelles, B-1000 Brussels, Belgium

Accepted for publication 17 October 1997

Summary

A standardized skin surface biopsy was performed in 34 patients suffering from skin diseases with high *Demodex folliculorum* density (Dd) $> 5 \text{ D/cm}^2$ before, during and after topical treatment. The patients were randomized into six comparable groups to study six topical treatments: metronidazole 2%, permethrin 1%, sublimed sulphur 10%, lindane 1%, crotamiton 10% and benzyl benzoate (BB) 10%. Their acaricidal activity was measured according to three criteria: (i) for each treatment, decrease of Dd to under the normal threshold ($\leq 5 \text{ D/cm}^2$); (ii) for each treatment, a significant decrease in Dd; and (iii) comparison of the relative difference in Dd between treatments. These three criteria converged to establish the acaricidal activity of BB on *D. folliculorum*; the efficacy of crotamiton was demonstrated by the second criterion. An important irritating effect was observed with BB and sulphur.

Demodex folliculorum is a 0.3 mm long transparent mite which asymptotically parasitizes the human pilosebaceous follicles (Fig. 1). The prevalence of the mite is 100%.^{1–4} It is considered to play a pathogenic role when, rarely, it penetrates the dermis, and when, much more frequently, it multiplies:^{1,3–9} its density (Dd), measured by standardized skin surface biopsy (SSSB), is therefore abnormally high ($> 5 \text{ D/cm}^2$).³

In 1961, Spickett succeeded in culturing *D. folliculorum* in human sebum to study its life cycle.¹⁰ In 1970, Norn studied the survival periods of *D. folliculorum* *in vitro* ($n = 592$) in contact with 45 different drugs and observed a marked killing effect of several substances on the mite.² However, mass culture *in vitro* has not yet been performed successfully.

We therefore found it useful to evaluate on *D. folliculorum* *in vivo* the acaricidal efficacy treatments (in their own form and application regimen) which produced, upon topical application, either clinical results in rosacea (metronidazole)^{11,12} or a sporadic acaricidal efficacy (permethrin,¹³ sulphur compound,^{1,5} lindane,^{5,8,13} crotamiton^{6,9} and benzyl benzoate (BB)⁸).

This work was carried out in private practice; the patients were recruited from dermatological consultations at Centre Hospitalier New Paul Brien (six of 34), and from private consultations (28 of 34). The study was authorized by the Ethical Committee of Centre Hospitalier New Paul Brien.

The aim of the present study was to select direct acaricide treatments which were most likely to be subjected to a clinical trial.

Patients and methods

Sampling method: standardized skin surface biopsy

Skin surface biopsy is a non-invasive sampling method by which it is possible to collect the superficial part of the horny layer and of the follicle content. It consists of placing a drop of cyanoacrylic adhesive (Loctite®) on a microscope slide, applying the adhesive-bearing surface of the slide to the skin, and removing it gently after it has been allowed to dry (about 1 min).^{7,14} Initially, a standard surface area of 1 cm^2 had been drawn on the other side of the slide with a waterproof marker, traced after putting the slide down on a sheet of standard square paper. The area of 1 cm^2 was divided into four equal squares in order to make counting of parasites easier (Fig. 2a). After removal from the skin, each sample was clarified with two to three drops of immersion oil, and then covered with a coverslip. The samples were studied microscopically at standard magnifications ($\times 40$, $\times 100$). A maximum of 4 h elapsed between the time of sampling and the examination of specimens.

The site used for SSSB was the clinically affected zone.



Figure 1. *Demodex folliculorum* as seen on a skin surface biopsy: four follicles with three to five mites per follicle (original magnification $\times 60$). Inset: three adult mites, one egg, arrowhead shaped (original magnification $\times 90$).

During successive clinical examinations for the same patient the site was always the same. However, samples from the same patient were taken in a rotation in order to avoid sampling at exactly the same place (Fig. 2b). The sampling sites were the cheek ($n = 27$), the forehead ($n = 3$), the nasolabial folds ($n = 2$) and the chin ($n = 2$). The clinical and microscopic examinations were performed by the same investigator.

Topical treatments tested

The treatments were metronidazole 2% twice daily, permethrin 1% for 10 min once every 2 days, sublimed sulphur 10% (mixed with violet essence in order to mask its smell) once every 2 days, lindane 1% once every 2 days, crotamiton 10% once daily, and BB 10% twice daily. All were mixed into Carbomerum gel (Pannoc Chemie S.A., Lammerdries, Belgium), except

for permethrin which was used as a specialty (Nix[®] rinse cream, Warner-Lambert S.C.A., Excelsiorlaan, Belgium). Carbomerum gel is composed of carbomer-lauromacrogol-propyleneglycol-neutrol TE-aqua conservans.

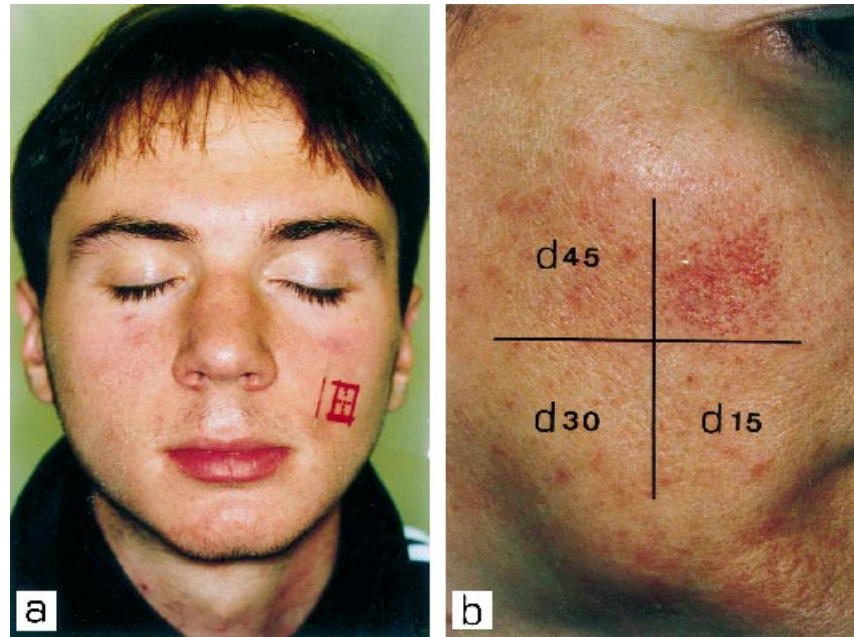
The attribution of the acaricide was made by randomization in groups of three patients. The tubes of cream were prepared by Pannoc (except for Nix[®]) and were provided to the patients without masking the composition of the product. One tube of Ictyane[®] moisturizing cream (Ducray-Pierre Fabre Benelux S.A., Bruxelles, Belgium) was also provided to each patient; this cream was to be used as required in the case of skin drying or skin irritation. The topical substances were applied for 45 days except for lindane, for which, owing to its potential risks of intoxication, we had to stop treatment at day 15, whatever the result.

Patients

All patients in the study gave their informed consent. They had been recruited between January 1995 and March 1996. Any patient presenting a skin condition likely to be correlated with an abnormally high density of *D. folliculorum* (see below) was asked to participate in the study. The inclusion criterion was $Dd > 5 D/cm^2$. The exclusion criteria were: $Dd \leq 5 D/cm^2$, skin which was too irritated, pregnant women, children, topical medicinal substance applied during the previous month or during the study, oral treatment (antibiotic, isotretinoin, metronidazole) or other factor (inhalation, peeling) likely to interfere with *Dd*. Among the 50 patients recruited for the study, 16 (32%) were excluded. The reasons for exclusion were: important skin irritation ($n = 6$), therapeutic interference ($n = 5$), lack of compliance ($n = 4$) and unforeseen hospitalization ($n = 1$). We initially intended to enrol six patients for each acaricide tested, but in the groups tested with BB and sulphur there were only five patients. These topical substances proved to be so irritating that we gave up in the course of the study and failed to complete our series for ethical reasons.

The conditions of the 34 participating patients were as follows: 14 had pityriasis folliculorum *Demodex* (PFD), 13 had papulopustular rosacea (PPR) (Fig. 3), three had 'squamous demodicidosis' (fine white non-follicular scales, without the typical frosted appearance of PFD), two had erythematotelangiectatic rosacea, one had 'dilated follicular orifices', giving her an orange peel aspect, and one had folliculitis. Two patients with PPR, one patient with PFD and the patient with follicular dilated ostia had an associated seborrheic dermatitis.

Figure 2. (a) Standardized skin surface biopsy (SSSB). A slide with, on the skin side, a drop of cyanoacrylic adhesive and, on the other side, a square of 1 cm per side, drawn with a waterproof pen, is applied to the skin. (b) A rotation is made within the clinically affected area in order to avoid sampling exactly in the same place. For example: day 0, upper right quadrant; day 15, lower right quadrant; day 30, lower left quadrant; day 45, upper left quadrant. The appearance of the skin after SSSB is shown in the upper right frame.



Statistical analysis

The six groups of patients were matched at baseline (day 0) for sex, age, relevant clinical parameters and Dd. The acaricidal activity of the treatments was assessed according to three criteria at the evaluation date. This date was day 15 for lindane and day 45 for the other treatments.

Clinician's criterion. An efficient treatment was a treatment able to bring down the Dd to normal values in all cases. The threshold was fixed at 5 D/cm² because it had been observed that 98% of patients in the control group of our previous study had fewer than 5 D/cm².³ No statistical test was performed.

A second qualitative criterion. This was the proportion of

Figure 3. Papulopustular rosacea (a) before treatment with benzyl benzoate (BB) (196 Demodex (D)/cm²), and (b) after 45 days treatment with BB (3 D/cm²).



Table 1. The three criteria used at the evaluation date

Treatment	n	Normalization of Dd		Reduction of Dd		Relative difference of Dd (%)			
		Success	Success	Test ^a	Median	Mean	SEM	Test ^b	
Metronidazole	6	2	4	NS	-82.4	+12.9	66.4	0.038	
Permethrin	6	0	4	NS	-44.2	-20.3	24.4		
Sulphur	5	2	3	NS	-25.9	-6.4	42.0		
Lindane	6	0	4	NS	-24.6	+34.9	61.5		
Crotamiton	6	1	6	0.016	-69.7	-64.4	10.1		
Benzyl benzoate	5	5	5	0.031	-98.5	-98.2	1.1		

Evaluation date: day 45 except with lindane for which the evaluation date was day 15. Dd: *Demodex* density (number of mites/cm²). Normalization: measurement of Dd ≤ 5 D/cm² at the evaluation date. Relative difference: Dd difference between evaluation date and day 0 divided by Dd at day 0 (in percentage). Success: responding patients.

Test: *P*-value or NS if statistically non-significant. Significance level (α) is equal to 0.05.

Test^a: binomial test comparing each treatment with theoretical probability of success. *P* = 0.5.

Test^b: Kruskal–Wallis test for overall comparison between treatments.

cases in which Dd was reduced at the evaluation date with regard to day 0. Bonnar *et al.*⁴ observed that Dd remains stable over the course of time, and this was confirmed in our experience. The probabilities that a parasite density increases or decreases were thus equal: in the absence of an efficient treatment, the density would increase in half of patients, whereas it would decrease in the other half. This was the null hypothesis of the binomial test applied to each treatment. The alternative hypothesis was that if a treatment were efficient, it would reduce the Dd in more than half of the patients. Only observations of five decreases/five patients and six decreases/six patients were statistically significant, with *P* = 0.031 and *P* = 0.016, respectively.¹⁵

Quantitative criterion. This is the relative difference of Dd computed for each patient. It is calculated by the following formula: $100 (Dd_e - Dd_0)/Dd_0$, where *Dd*₀ and *Dd*_e, respectively, correspond to the Dd measurements made at day 0 and at the evaluation date. The Kruskal–Wallis rank test was used for global comparison of the index distributions of the six groups.¹⁵ Multiple comparisons were then carried out using a corrected level of significance α in order to identify which treatments differed from the others, as indicated by Siegel and Castellan¹⁵ and according to the method of Scheffé.¹⁶ The tests performed were unilateral for the second criterion and bilateral for the third. The global significance level α was equal to 0.05. The analyses were performed with Epi-Info software.¹⁷

Results

The results are shown in Table 1 and Figure 4. The treated groups were comparable at day 0 for all variables, due to randomization. The mean and median Dd at day 0 were, respectively, 53 and 27 for metronidazole, 82 and 88 for permethrin, 71 and 30 for sulphur, 42 and 30 for lindane, 61 and 43 for crotamiton, 64 and 30 for BB, and 62 and 39 for the whole sample.

According to the first criterion (the clinician's), only BB was efficient: the Dd was normal (≤ 5 D/cm²) at day 45 in all patients treated (five of five patients). According to the second criterion, BB and crotamiton were efficient: the Dd decreased statistically significantly in more than half of the patients with BB (five of five patients; *P* = 0.031) and with crotamiton (six of six patients; *P* = 0.016) at the evaluation date. The third

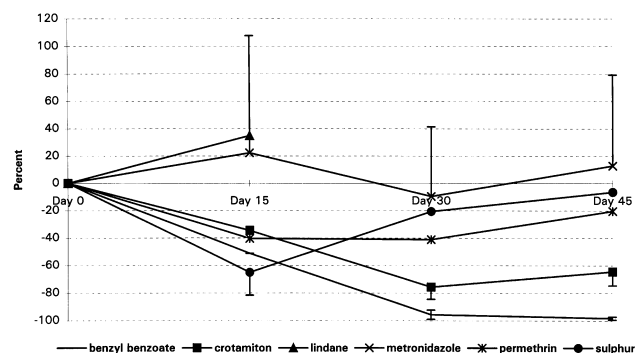


Figure 4. Relative differences in *Demodex* density from day 0. The points represent the mean of relative differences and the error bar represents SEM. At day 30, *P* = 0.053. At day 45, *P* = 0.038 (Kruskal–Wallis test; both comparisons include lindane values at day 15).

criterion, based on the relative difference, showed that Dd decreased by an average of 98.2% from its initial value with BB, and by 64.4% with crotamiton. It decreased to a lesser extent with permethrin (20.3%) and sulphur (6.4%). It increased with metronidazole (12.9%) and lindane (34.9%). The comparison of the six treatments revealed that one of them, at least, had an efficacy different from the others ($P=0.038$). Multiple comparisons showed that only the difference between BB and lindane was statistically significant ($P<0.05$).

The three criteria converged to establish the acaricidal activity of BB. The efficacy of crotamiton was demonstrated according to the second criterion. Six patients were excluded for important skin irritation, three of them in the sulphur group and three in the BB group. Other, more moderate irritations, which did not necessitate stopping treatment, were observed: three patients with sulphur, two patients with BB. One case of irritation was reported with Nix[®] and one case with crotamiton. Approximately one patient in two (59% at day 45) used the moisturizing cream Ictyane[®] that had been provided at the beginning of the treatment, irrespective of the treatment group.

Discussion

The fact that *D. folliculorum* becomes pathogenic when it multiplies^{1,3,5} is probably linked to the amplification of its individual irritating action, which then becomes sufficient to induce a perifollicular inflammation¹⁸ and to be clinically observed. Several compounds have proved their efficacy in rosacea or other demodicidoses but their mode of action remains hypothetical and their efficacy against *Demodex* is not proved. In our study, metronidazole did not show any acaricidal activity on *D. folliculorum*. We observed that the mean relative difference oscillated around the initial value, combined with a large standard deviation throughout the whole study. This means that the response was not homogeneous. At day 45, a mean Dd increase of 13% was observed (Fig. 4).

Permethrin was tested in the form of 1% rinse cream, because it was successfully used like this by Dominey *et al.*^{13,19} Although the mean of relative differences showed a Dd decrease (Fig. 4), no acaricidal action on *Demodex* could be demonstrated in a statistically significant way (Table 1). Perhaps the vehicle or the concentration used was not adapted to kill *Demodex*; therefore, it would be useful to study, for example, 5% permethrin cream in a future study.

Sublimed sulphur frequently showed an important irritant effect in the course of our study. Moreover, its acaricidal activity could not be demonstrated: the mean relative differences showed an important Dd decrease at day 15 in the group of patients treated with sulphur, but this decrease was not maintained and became non-significant at day 45. This is perhaps attributable to an unconfessed lack of compliance by the patients resulting from the irritating effect of the sulphur gel, to a chemical instability of the preparation, or to the limited number of patients that could be tested. Based on the results of previous studies,^{1,2,5,20} however, we think that sulphur deserves to be included in a later study, in the form of 2.5% selenium sulphide shampoo once daily or at 10% in Diprobase[®] cream²⁰ three times per week.

Lindane (gamma benzene hexachloride) did not have any statistically significant acaricidal effect on Dd. Perhaps this is due to the fact that this substance was only tested for 15 days; however, we do not suggest testing lindane in a higher concentration or for a longer time, owing to its well-known potential toxicity to the central nervous system.

The efficacy of crotamiton on *Demodex*^{2,6,9} was confirmed: the Dd was normalized after 6 weeks treatment in only one of six patients, but it decreased on average by 64% in all patients ($P=0.016$, Table 1, Fig. 4). The acaricidal activity of crotamiton seems to be lower than that of BB in our study: we therefore suggest that in a future study crotamiton should be applied twice daily instead of once daily.

According to the literature, BB has not often been used in demodicidosis^{8,21} but nevertheless, we observed an important acaricidal action of BB: Dd decreased in all cases, by an average of 98%, and became normal in all patients (five of five) at day 45 (Table 1, Figs 3 and 4). No statistical test was applied to confirm the performance of BB according to the first criterion; however, based on the results obtained for the other treatments (Table 1), if the study were to be conducted on a larger number of patients, the probability that one of the other treatments tested would be able to give such a result is low. Regarding the third criterion, which is a quantitative one, only the difference in activity between BB and lindane, reaching 133%, was statistically significant ($P<0.05$). However, even a difference as high as 111.1% (as observed between BB and metronidazole) could not guarantee statistical significance owing to the low number of patients. These multiple comparisons are known to be statistically insensitive in detecting differences that truly exist.¹⁶ We observed an important

irritant action of this substance. Certain changes could therefore be made in a further study: BB might be less concentrated and applied once instead of twice daily.

The SSSB collects the superficial part of the follicle content, so the acaricidal action demonstrated in this study concerns only the mites of the superficial part of the follicle, and not the population of the entire follicle. However, an acaricidal action at the opening of the follicle would probably impair the reproduction of the mite because copulation occurs at this level.¹⁰ The acaricidal action that has been demonstrated in this study results from a global evaluation: it only takes the final results into account (only the disappearance of *Demodex*), without knowing whether the acaricidal action is direct or indirect.

Our experimental method was suited to select treatments which are most effective against *Demodex*: to demonstrate an important activity of a treatment on the Dd (in the case of the first two evaluation criteria), or an important difference in efficacy between the treatments considered (in the case of the third evaluation criterion). Owing to the limited number of patients, the activity of certain substances might elude the statistical tests and could appear only in larger samples.

The importance of the quantitative aspect in the pathogenic role of *D. folliculorum* is that it supports the usefulness of finding effective treatments against this mite in order to combine them with the current treatments for rosacea and other demodicidosis. Further studies will have to confirm if this role can be played by BB or crotamiton, whose acaricidal activity against *Demodex* is demonstrated in this study.

Acknowledgments

We thank Dr J.André, Dr M.Bernard, Dr M.Boone, Mrs C.Leen, and the firms Ducray, Janssen-Cilag, Pannoc and Wellcome for their suggestions and/or logistic support during the course of this study.

References

- 1 Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. *Arch Dermatol* 1967; **95**: 63–6.
- 2 Norn MS. *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol* 1970; **108** (Suppl.): 1–85.
- 3 Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–9.
- 4 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–8.
- 5 Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816–27.
- 6 Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986; **15**: 1159–62.
- 7 Hojyo T, Dominguez L. Demodicidosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cut Iber Lat Am* 1976; **2**: 83–90.
- 8 Ruffli T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S. *Demodex folliculorum*: zur Ätiopathogenese und Therapie der Rosazea und der perioralen Dermatitis. *Dermatologica* 1981; **162**: 12–26.
- 9 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915–17.
- 10 Spickett SG. Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). I. Life history. *Parasitology* 1961; **51**: 181–92.
- 11 Hoekzema R, Hulsebosch H, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; **133**: 294–9.
- 12 Nielsen PG. Metronidazole treatment in rosacea. *Int J Dermatol* 1988; **27**: 1–5.
- 13 Dominey A, Rosen T, Tschen J. Papulonodular demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 197–201.
- 14 Marks R, Dawber RPR. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; **84**: 117–23.
- 15 Siegel S, Castellan NJ. *Non Parametric Statistics for the Behavioral Sciences*. 2nd edn. Singapore: McGraw-Hill International, 1988; 38 *et seq.*, 206 *et seq.*, 213.
- 16 Lellouch J, Lazar P. *Méthodes Statistiques en Expérimentation Biologique*. Paris: Flammarion, 1974; 132–7.
- 17 Dean AG, Dean JA, Burton AH, Dicker RC. Epi-Info, version 5: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Stone Mountain, GA: USD, Incorporated, 1990.
- 18 Forton F. *Demodex* et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venerol* 1986; **113**: 1047–58.
- 19 Dominey A, Tschen J, Rosen T *et al.* Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 81–4.
- 20 Blom I, Hornmark AM. Topical treatment with sulfur 10 percent for rosacea. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 1984; **64**: 358–9.
- 21 De Dulanto F, Camacho-Martinez F. Demodicidose 'gravis'. *Ann Dermatol Venerol* 1979; **106**: 699–704.

Nous avons pu démontrer l'action acaricide du benzoate de benzyle (BB) (et dans une moindre mesure du crotamiton) sur *D folliculorum* in vivo, tandis qu'aucune action acaricide n'a pu être constatée statistiquement pour le traitement de référence (le métronidazole) (Fig. 74).

Depuis, nous avons traité avec succès presque tous nos patients souffrant de RPP et de démodécie avec une crème topique composée de ces deux molécules (BB et crotamiton) (§ 4.2.8.).

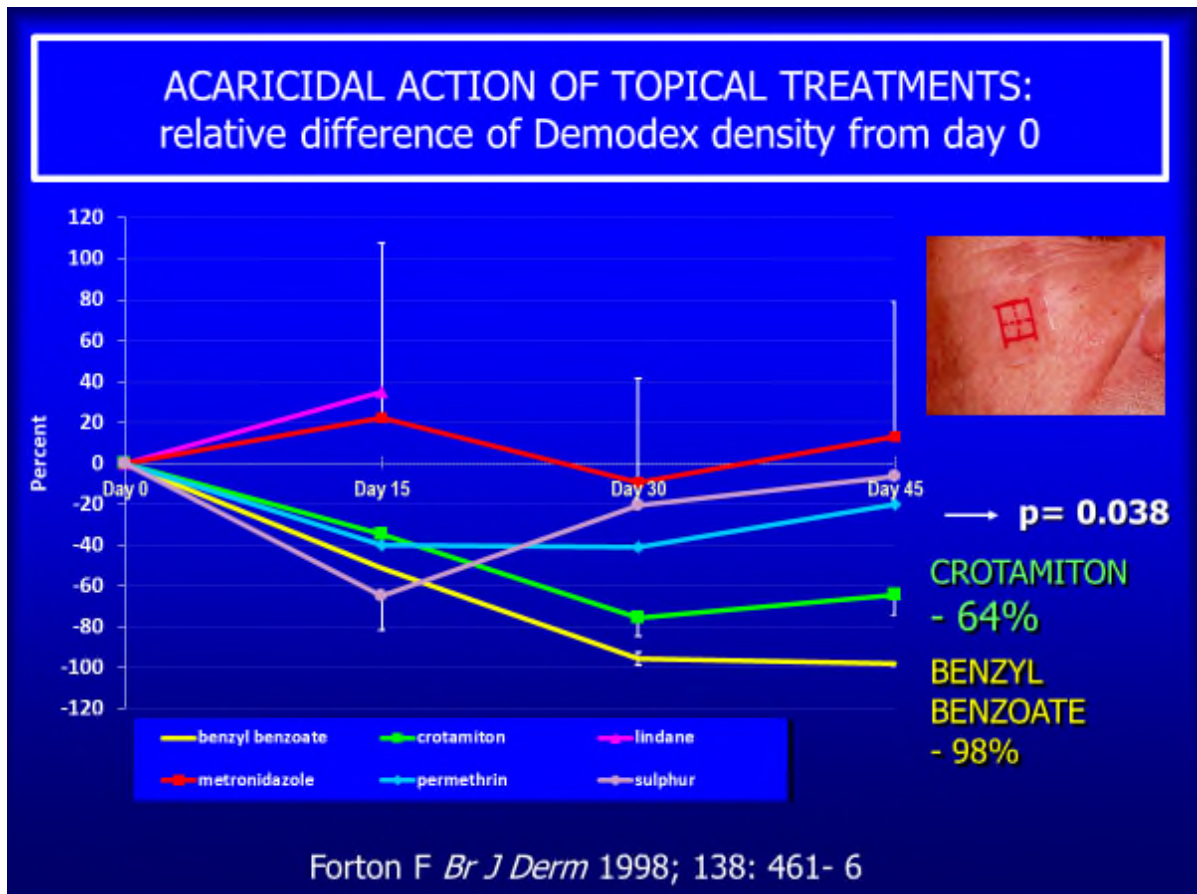


Fig. 74. Représentation schématique de l'évolution des densités en *D folliculorum* au cours des traitements topiques appliqués : **après 45 jours de traitement, la densité moyenne a diminué de 98% avec le BB et de 64% avec le crotamiton par rapport aux valeurs initiales observées.**

Depuis, d'autres études ont montré un effet acaricide de la perméthrine utilisée en crème 2x/j.^{283,284} Dans notre étude, nous l'avions testée en crème à rincer après 10 minutes et appliquée seulement tous les deux jours, ce qui explique peut-être l'absence d'effet acaricide observé.

3.5. 1998 : Folliculite à Demodex²⁰⁰

Lettre à l'Editeur

En 1996, une étude très similaire à l'étude que nous avons publiée en 1986 a été publiée dans un journal américain d'anatomopathologie, mais sans référer aucunement à notre propre étude.¹⁹⁹ Nous avons donc cru bon de signaler cela à l'éditeur afin de défendre notre publication aux USA.

- of bimodal CD34 and Factor XIIIa positive dendritic cell subsets. *Pathol Res Pract* 1997;193:673-82.
16. Silverman JS, Tamsen A. Mammary myofibroblastic tumor. Case report and immunohistochemical comparison with mammary pseudoangiomatous stromal hyperplasia and gynecomatia. *J Histotechnol* (in press).
 17. Silverman JS, Tamsen A. Hemangiopericytoma is an angioblastic fibrohistiocytic tumor composed of CD34+ and factor XIIIa+ dendritic cell subsets. *Cell Vis* 1996;3:375-81.
 18. Tamsen A, Silverman JS. GIST. [Letter] *Am J Surg Pathol* 1995;19:1444-5.
 19. Silverman JS, Tamsen A. Intralesional CD34-positive fibroblasts and factor XIIIa-positive histiocytes in cutaneous mesenchymal tumors [Letter]. *Am J Dermatopathol* 1998;20:317-20.
 20. Zelger B, Zelger BG, Rappersberger K. Prominent myofibroblastic differentiation. A pitfall in the diagnosis of dermatofibroma. *Am J Dermatopathol* 1997;19:138-46.
 - 20A. Zelger B. Author's reply [Letter]. *Am J Dermatopathol* 1998;20:321-2.
 21. Morgan MB, Pitha J, Johnson S, Dunn B, Everett MA. Angiomatoid malignant fibrous histiocytoma revisited. An immunohistochemical and ploidy analysis. *Am J Dermatopathol* 1997;19:223-7.
 - 21A. Morgan MB. Author's reply [Letter]. *Am J Dermatopathol* 1998;20:320.
 22. Fanburg-Smith JC, Miettinen M. Immunoprofile of 97 angiomatoid malignant fibrous histiocytoma (AMFH); identification of a desmin positive, round cell subtype [Abstract]. *Mod Pathol* 1997;10:9A.
 23. van de Rijn M, Roussel RV. CD34. A review. *Appl Immunohistochem* 1994;2:71-80.
 24. Ockner DM, Sayadi H, Swanson PE, Ritter JH, Wick MR. Genital angiomatoid fibroblastoma. Comparison with aggressive angiomatoid myxoma and other myxoid neoplasms of skin and soft tissue. *Am J Clin Pathol* 1997;107:36-44.
 25. Adany R, Kappe Imayer J, Muszbek L. Expression of factor XIII subunit A in different types of human macrophages. *Adv Biosci* 1987;66:323-33.
 26. Bruhn HD, Pohl J. Growth regulation of fibroblasts by thrombin, factor XIII, and fibronectin. *Klin Wochenschr* 1981;59:145-6.
 27. Nickoloff BJ, Griffiths CEM. The spindle-shaped cell in cutaneous Kaposi's sarcoma and simulators is the factor XIIIa positive collagen associated dendrocyte (dermal dendrocyte). *Am J Pathol* 1989;135:793-800.
 28. Nickoloff BJ. The human progenitor cell antigen (CD34) is localized on endothelial cells, dermal dendritic cells, and perfollicular cells in formalin-fixed normal skin, and on proliferating endothelial cells and stromal spindle-shaped cells in Kaposi's sarcoma. *Arch Dermatol* 1991;127:523-9.
 29. Majdic O, Stockl J, Pickl W, et al. Signaling and induction of cytoadhesion via the hematopoietic progenitor cell surface molecule CD34. *Blood* 1994;83:1226-34.
 30. Shimizu Y, Shaw S. Cell adhesion. Mucins in the main stream. *Nature* 1993;366:630-1.
 31. Suster S, Fisher C, Moran CA. BCL-1 expression in benign and malignant spindle cell tumors of soft tissue, skin, serosal surfaces, and gastrointestinal tract. *Am J Surg Pathol* 1998;22:863-72.
 32. Aiba S, Tagami H. Inverse correlation between CD34 expression and proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity on spindle cells noted in hypertrophic scars and keloids. *J Cutan Pathol* 1997;24:65-70.
 33. Bonish BK, Foreman KE, Gutierrez-Steil C, Nickoloff BJ. Phenotype and proliferation characteristics of cultured spindle-shaped cells obtained from normal human skin and lesions of dermatofibroma, Kaposi's sarcoma, and dermatofibrosarcoma protuberans: a comparison with fibroblast and endothelial cells of the dermis. *J Dermatol Sci* 1997;16:52-8.
 34. Gray MH, Trimble CL, Zirn J, McNutt NS, Smoller BR, Varghese M. Relationship of factor XIIIa-positive dermal dendrocytes to Kaposi's sarcoma. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:791-6.
 35. Mosher OF, Schad PE, Yarn JM. Cross-linking of collagen and fibronectin by factor XIIIa. *J Biol Chem* 1980;255:1181-8.
 36. Corbeil SA, Lee L, Wilson CL, Schwarzbauer JE. Covalent cross-linking of fibronectin to fibrin is required for maximal cell adhesion to a fibronectin-fibrin matrix. *J Biol Chem* 1997;272:24999-25005.
 37. Ueki S, Takagi J, Saito Y. Dual function of transglutaminase in novel cell adhesion. *J Cell Sci* 1996;109:2727-81.
 38. Paye M, Nusgens BV, Lapiere CM. Factor XIII of blood coagulation modulates collagen biosynthesis by fibroblasts in vitro. *Hemosclerosis* 1989;9:274-8.
 39. Silverman JS, Tamsen A. Observations on the role of factor XIIIa+ dendritic mammary stroma cells in myofibroblastic stromal remodeling and angiogenesis in mammary carcinoma. *Cell Vis* 1998;5:77-9.

Demodex-associated Folliculitis

To the Editor:

I appreciated K Vollmer's interesting study, published in the *American Journal of Dermatopathology* in 1996 (1). I published a comparable study in 1986 (2) and am glad to find that Dr. Vollmer found similar results.

1. I analyzed 69 skin biopsies, each containing at least 3 Demodex. He analyzed 24 biopsies, containing at least 1 Demodex.
2. I found Demodex in 56% of inflamed follicles (n = 287) and in only 29% of noninflamed follicles (n = 423) (p < 0.001). He found Demodex in 42% of inflamed follicles (n = 208) and in only 10% of noninflamed follicles (n = 180) (p < 0.0009).
3. I found inflammation in 57% of follicles with Demodex (n = 284) and in 29% of follicles without Demodex (n = 426) (p < 0.001). He found inflammation in 83% of follicles with Demodex (n = 105) and in 43% of follicles without Demodex (n = 283) (p < 0.0009).

Dr. Vollmer writes: "The most elegant study to relate the number of mites to clinical rosacea was that of Bonnar et al. (3)." I published a comparable study in the same year, 1993, also with cyanoacrylate glue, and introduced the concept of standardized skin surface biopsy to evaluate the Demodex density (4). I was also glad to find that Bonnar et al.'s results were comparable with mine.

I appreciate the interesting study of Dr. Vollmer, but I do not understand why he did not refer to my first nor my second work, which are both closely related to his study and his discussion.

Fabienne Forton, M.D.
Brusse Is, Belgium

REFERENCES

1. Vollmer RT. Demodex-associated folliculitis. *Am J Dermatopathol* 1996;18:589-91.

1. Forton F. Demodex et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venerol* 1986; 113:1047-58.
2. Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:443-8.
3. Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin-surface biopsies. *Br J Dermatol* 1993;128:650-9.

Author's Reply

To the Editor:

I apologize to Dr. Forton and to your readers for omitting references to his papers that also dealt with the association between Demodex and folliculitis. This was an oversight on my part because I was not aware of his 1986 publication. Furthermore, I agree that he found similar results to the results of my study, which can now be seen as a confirmatory study of his earlier result. I also agree with his suggestion that Demodex causes folliculitis, although this is difficult to prove. Since working on this study, I have commonly found Demodex associated with isolated instances of localized folliculitis and even pustular folliculitis. In my opinion, just as superficial scars may obstruct the outward flow from follicles and sebaceous glands and cause folliculitis, so may the Demodex.

Robin T. Vollmer, M.D., M.S.
Laboratory Medicine 113
VA Medical Center
Durham, NC

Sebaceous Differentiation in Microcystic Adnexal Carcinoma

To the Editor:

In their article "Microcystic adnexal carcinoma with extensive sebaceous differentiation," Pujol et al. described two cases of microcystic adnexal carcinoma with sebaceous differentiation apparently identified entirely based on the appearances in hematoxylin and eosin-stained sections (1). No special staining for lipid was described and the immunohistochemical studies performed produced results that might be attributed solely to eccrine differentiation.

Clear cell change is sometimes seen in normal eccrine glands (2); when seen in isolation, it closely resembles sebaceous differentiation (Fig. 1). When normal sebaceous glands are compared with these eccrine glands

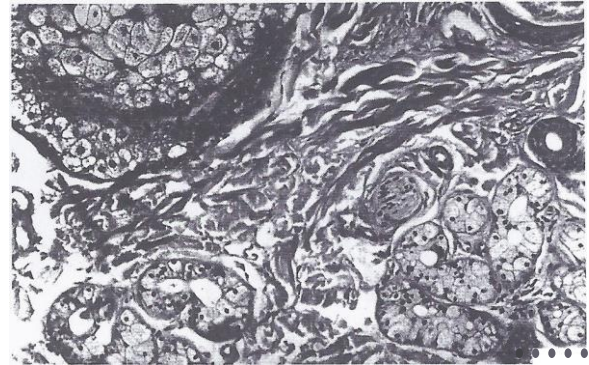


FIG. 1. Sebaceous gland (upper) and lobules of eccrine glands composed predominantly of clear cells (lower). The main difference in this H & E section is the larger size of the sebaceous cells; the morphologic features are otherwise very similar.

with clear cell change, the main differences are the larger size of the sebaceous cells and, if stained appropriately, their intracytoplasmic lipid content. Clear cell change in syringoma (3,4) and syringomatous carcinoma (2) is also well documented.

I would be interested to know if Pujol et al. might consider that the vacuolated cells in the two tumors they described could represent eccrine differentiation of clear cell type rather than sebaceous differentiation.

P. J. Heenan, M.B., B.S., F.R.C.Path, F.R.C.P.A.
Cutaneous Pathology
26 Leura Street
Nedlands 6009
Western Australia

REFERENCES

1. Pujol RM, LeBoit PE, Daniel SW. Microcystic adnexal carcinoma with extensive sebaceous differentiation. *Am J Dermatopathol* 1997; 19:358-62.
2. Abenoza P, Ackerman AB. Neoplasms with eccrine differentiation. Philadelphia: Lea and Febiger. 1989:45-72;373-412.
3. Healdington JO, Koshi J, Murphy PJ. Clear cell syringoma: a study by multiple syringomas. *Arch Dermatol* 1972;106:353-6.
4. Feibelman CE, Mazi JC. Clear cell syringoma: a study by conventional and electron microscopy. *Am J Dermatopathol* 1984;6: 139-50.

Author's Reply

To the Editor:

Dr. Heenan correctly points out that vacuolated cytoplasm, simulating sebaceous differentiation, can indeed occur in eccrine secretory cells and also occurs in syringoma.

3.6. 2005 : Grande fréquence des démodécies¹²⁶

En plus de la rosacée, due, pour nous, à la prolifération du Demodex, nous voyions d'autres démodécies chaque semaine dans le cabinet. Nous avons donc contacté successivement plusieurs firmes pharmaceutiques pour essayer de développer un topique anti-Demodex « avant que cela ne soit connu par les autres firmes ». Si les équipes scientifiques rencontrées se montraient à chaque fois enthousiastes, les commerciaux bloquaient systématiquement le projet. Même la firme qui, à l'époque, vendait l'ivermectine en comprimés n'était pas intéressée d'étudier son action potentielle sur le Demodex en usage local...

La dernière firme contactée avait conclu : « Vous dites que les indications d'un topique anti-Demodex sont très fréquentes, mais, le problème, c'est...qu'il n'y a que **vous qui le dites** : montrez-le ! ...».

En effet, à cette époque, le rôle du Demodex dans la rosacée n'était pas du tout accepté et les démodécies étaient considérées comme une maladie rare,⁷⁸ survenant occasionnellement chez les patients immunodéprimés... tout simplement parce que les dermatologues n'étaient pas habitués à les détecter, ni à les rechercher (on n'en parlait généralement pas dans les universités). Ils n'envisageaient ce diagnostic que devant un patient fortement immunodéprimé, et publiaient alors leur cas « rare » sous forme de « case report ». ^{116-122,125,145,149,150,193-195,247-251}

Voilà donc une maladie « exceptionnelle » se développant essentiellement chez les patients immunodéprimés, que nous, nous voyions chaque semaine en consultation privée, comme Ayres au début du siècle,⁶ chez des patients à priori immunocompétents...

Il fallait donc essayer de faire connaître cette réalité : les démodécies sont fréquentes, mais mal diagnostiquées. Nous avons dès lors sensibilisé 9 autres dermatologues belges au diagnostic et mené avec eux une étude épidémiologique, afin d'augmenter le nombre de patients collectés, mais aussi la crédibilité de nos observations.

Au cours de leurs consultations habituelles, ils allaient remplir des formulaires concernant les cas cliniques de démodécies et de rosacée, et feraient systématiquement une SSSB chez ces patients. Si, après lecture, la densité en Demodex s'avérait normale, alors il leur était demandé de pratiquer une 2° SSSB pour augmenter la sensibilité de la technique. Après leur consultation, le soir, ils rempliraient un autre formulaire, sur base des dossiers de tous les patients vus le jour-même, pour relever tous les diagnostics dermatologiques rencontrés au cours de la journée.

Demodicosis and rosacea: Epidemiology and significance in daily dermatologic practice

Fabienne Forton, MD,^a Marie-Anne Germaux MD,^{a,b,c} Thierry Brasseur, MD,^a
Anne De Liever, MD,^{a,d} Marianne Laporte, MD,^{a,b} Chantal Mathys, MD,^a Ursula Sass, MD,^{a,e}
Jean-Jacques Stene, MD,^{a,e} Sylvie Thibaut, MD,^{a,f,h} Muriel Tytgat, MD,^{a,b,g} and Bruno Seys, MD^a
Brussels and Charleroi, Belgium

Background: Demodicoses are thought to be rare, occurring mainly for patients with immunosuppression.

Objective: We sought to demonstrate the high frequency of demodicoses and the overlapping with papulopustular rosacea (PPR).

Methods: We conducted a prospective epidemiologic study among 10 dermatologists. High *Demodex* density (Dd) was confirmed by standardized skin surface biopsy.

Results: In all, 4372 diagnoses, in which 115 were demodicoses, were collected among 3213 patients. Demodicosis was the 9th most frequent diagnosis (13th new). Each dermatologist observed an average of 2.4 demodicoses a week (1.2 new). The proportion of demodicoses varied greatly according to the dermatologist. The general status was good in 110 patients; only 3 had known immunodeficiency. The most frequent symptoms were follicular scales (71%) and telangiectasia (63%). The mean Dd was higher in pityriasis folliculorum ($m = 61 \text{ D/cm}^2$) than in PPR ($m = 36 \text{ D/cm}^2$; $P = .04$); 42 patients with PPR had a high Dd, 6 had a low Dd.

Conclusion: Demodicoses are frequent and occur among patients who are immunocompetent. PPR with normal Dd are rare. (J Am Acad Dermatol 2005;52:74-87.)

Demodex (*D*) *folliculorum* is a 0.3-mm long transparent mite¹ that parasitizes the normal skin with a prevalence of 100%²⁻⁴ and a density $\leq 5 \text{ D/cm}^2$ in the adult population (Table I).³⁻¹⁰ It is usually considered as playing a pathogenic role when it multiplies³⁻²⁰ and when it penetrates the dermis.²¹⁻²⁹ To date, it has been implicated in the occurrence of a wide range of clinical features: pityriasis folliculorum,^{11,13,14,30-32} papulopustular rosacea (PPR),^{3-7,12-15,17,18,30} granulomatous rosa-

cea,^{21,23,24,26-29} and in some cases of isolated inflammatory papule,²² folliculitis,¹⁶ hyperpigmentation,¹⁴ and blepharitis.^{2,13,19,33-36}

The pathogenic role of the mite is indirectly confirmed when the dermatosis with high *Demodex* density (Dd) cures with an acaricidal treatment, conjointly to the normalization of the Dd.^{12,15,18,30,37,38} Nevertheless, the direct absolute proof of the causal relationship is not yet established: a massive experimental infestation cannot be performed because *D folliculorum* is a host-specific obligate parasite, and can presently not be grown in vitro. Therefore, the entity "demodicosis" remains controversial.

Isolated cases of demodicosis occurring in children³⁹⁻⁴⁶ and adults⁴⁷⁻⁵⁷ who are immunosuppressed have recently been reported in the literature, inducing the worldwide idea that demodicoses are rare^{18,29} and occur mainly (or only) in patients with immunosuppression.⁵⁶ However, we believe that demodicoses occur frequently beyond the general population in good health, and that they both parasitically and clinically cure with acaricidal treatment. Therefore, we asked 9 other dermatologists to participate in this study with the aim of confirming

From private practices^a; Department of Dermatology, Erasme University Hospital^b and Centre Hospitalier Universitaire Saint-Pierre,^c Université Libre de Bruxelles; Institut Medical Edith Cavell^c; Centre Hospitalier Molière Longchamp and Centre Hospitalier Bracops^d; Hôpitaux Iris Sud site Etterbeek^f; Hôpitaux Iris Sud site Ixelles,^g Brussels, Belgium; and Hôpital Civil de Charleroi,^h Charleroi, Belgium.

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None identified.

Reprint requests: Fabienne Forton, MD, rue Franz Binjé, 8, B-1030, Brussels, Belgium. E-mail: fabienne.forton@skynet.be.

0190-9622/\$30.00

© 2005 by the American Academy of Dermatology, Inc.

doi:10.1016/j.jaad.2004.05.034

Table I. Demodex density in rosacea, healthy control subjects, and patients with immunosuppression

Localization	Y	Rosacea (all), D/cm ²	Healthy skin, D/cm ²	IS and variants, D/cm ²	P
Cheek					
Bonnar ⁴	1993	8 (42)	2 (42)		—
Forton ³	1993	10.8 (49)	0.7 (45)		< .001
			0.7 (45)	0-1.8 (21)	NS
Abd-El-Al ⁵	1997	8.1 (16)	2 (16)		< .001
Erbagci ⁶	1998	5 (38)	2 (38)		.02
El Shazly ⁷	2001	25.3 (60)	3.8 (50)		.000 [†]
Akdeniz ⁸	2002		4.6 (54)	9.6 (54)**	< .04
Forehead					
Bonnar ⁴	1993	4.2 (42)	0.9 (42)		—
Abd-El-Al ⁵	1997	4.1 (16)	0.9 (16)		< .001
Erbagci ⁶	1998	1.1 (38)	0.3 (38)		NS
Akdeniz ⁸	2002		2.4 (54)	2.6 (54)**	NS
Chin					
Bonnar ⁴	1993	2 (42)	0.2 (42)		—
Abd-El-Al ⁵	1997	1.9 (16)	0.2 (16)		< .001
El Shazly ⁷	2001	8.2 (60)	3.6 (50)		.007 [†]
Nose					
Erbagci ⁶	1998	0.5 (38)	0.5 (38)		NS
El Shazly ⁷	2001	7.1 (60)	0.4 (50)		.003 [†]
Akdeniz ⁸	2002		2.5 (54)	4.5 (54)**	NS
Face					
Bonnar ⁴	1993	4.7 (42)	1 (42)		< .001
			0.7 (14)	6.9 (14) [‡]	< .001
Aydingöz ⁹	1997		0.55 (30)	0 (30)	NS
Abd-El-Al ⁵	1997	4.7 (16)	1 (16)		< .001
Erbagci ⁶	1998	2.2 (38)	1 (38)		< .05
Aydingöz ¹⁰	2000		1.3 (39)	0.55 (40)*	NS
El Shazly ⁷	2001	15.6 (60) [†]	2 (60) [†]		.000 [†]
Akdeniz ⁸	2002		3.1 [†] (54)	5.6 [†] (54)**	—

IS, Patients with immunosuppression; NS, not significant; (n), number of subjects in each group; —, not specified in original paper.

Standardized skin surface biopsy appears to be an appropriate method to measure *Demodex folliculorum* density (Dd), as it enables comparisons to be made by different investigators.

All these studies were performed without cleaning the skin with ether. Aydingöz¹⁰ alone washed the skin with soap and water before sampling.

Dd on the face is the mean of the Dd from different locations. As Dd varies according to the site (the most infested site appearing to be the cheeks), facial Dd are not exactly comparable if the locations are not the same.

*Pregnant; **diabetic; [†]unpublished data computed from published data; [‡]steroid-induced rosacea.

3 main stages of our clinical experience: (1) the relative frequency of demodicosis is high proportionally to other diagnoses occurring in general ambulatory dermatologic practice; (2) PPR with normal Dd are rare; and (3) Dd seems higher as the visible immune reaction is lower; in particular, it seems higher in pityriasis folliculorum than in PPR.

This study being an epidemiologic observational study, its aim was not to prove the causal relationship.

METHODS

Dermatologists

A total of 10 dermatologists, having general ambulatory consultations in Brussels, Belgium, and in the vicinity of the town, participated in the study. They were on average 42 years old (range: 30-50 years) and

included 8 women and 2 men. At the beginning of the study, they had practiced general dermatology for an average of 13 years (range: 2-22 years) and were not all familiar with the diagnosis of demodicosis: only 3 dermatologists usually diagnosed at least one demodicosis per week, two diagnosed one demodicosis per month, and the 5 others rarely or never diagnosed demodicosis in their practice (Table II). Therefore, a workshop was organized to clearly remind the dermatologists of the various clinical manifestations of demodicosis and to train the dermatologists to perform and read the standardized skin surface biopsy (SSSB). A written protocol with photographs was given to all participants.

Each dermatologist collected all the diagnoses of patients he receives at one or more places, where

Table II. Diagnosis of demodicosis: comparison between dermatologists

Characteristics		Dermatologist										All	P
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Self-assessed frequency	Before study	+++	+++	++	+++	-	+	+	-	+	++		
	After study	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+++		
Demodicoses (all)	n=	37	35	8	18	8	1	4	3	0	1	115	
	(%)	32%	30%	7%	16%	7%	1%	3%	3%	0%	1%	100%	
Patients with demodicosis		9.2%	7.2%	2.6%	7.4%	3.1%	0.2%	1.3%	0.8%	0%	0.5%	3.6%	<.0000
Demodex density (D/cm ²)	Mean	47	64	29	39	14	8	37	52	-	40	47	.5
	Extremes	4-208	3-396	9-80	8-123	8-26	8-8	12-60	28-73	-	40-40	3-396	
Demodicoses	New	19*	17*	2	7	5	1	4	1	0	0	56	<.0000
	Follow-up	18*	18*	6	11	3	0	0	2	0	1	59	<.0000
Insufficiently investigated ETR with Dd ≤ 10 D/cm ²		1	11 [†]	1	8	7	3	3	3	2	7	46	NC
PPR with Dd ≤ 10 D/cm ²		7 [†]	2	3	0	1	0	3	1	1	0	18	NC
		0	0	1	0	0	0	4 [†]	1	0	0	6	NC

ETR, Erythematotelangiectasic rosacea; NC, noncomputable; PPR, papulopustular rosacea.

Frequency of diagnosis (minimum): +++ = 1/wk ++ = 1/mo + = 1/y - = never.

*Value significantly different from the others; [†]value out of 95% confidence limits of a Poisson distribution.

there was a microscope, so as to obtain at least 50 patients per period. Often dermatologists have consultations in other locations at which patients diagnoses are not collected.

The 10 dermatologists collected patient diagnoses from 20 consultation locations: 15 in Brussels, Belgium; and 5 in the outskirts of the town. These were mainly in private practice (10), but also in polyclinics (4) and hospitals (6) (Appendix). The observations were made during a whole week every 3 months throughout the year: period 1 = beginning June 2002; period 2 = end of September 2002; period 3 = middle December 2002; period 4 = end of March 2003; period 5 = beginning June 2003.

Sampling method: The SSSB

The skin surface biopsy^{17,58} (Fig 1) was standardized with a red waterproof marker³⁰ to analyze a standardized surface of 1 cm² and to obtain the Dd (number of mites/cm²).³

In this study, the dermatologist initially cleaned the slide and the skin of the patient with ether before performing the SSSB, to improve and to standardize the adherence.³¹ Only *D folliculorum* clearly identified on the basis of its own anatomic characteristics⁵⁹ were taken into consideration. If Dd was ≤ 5 D/cm² at the first SSSB, a second SSSB was performed, at the same place, to avoid false-negative results.³¹ *D brevis*, living deeper in the sebaceous gland, was rarely observed with this sampling method. The SSSB was performed at the level of the lesions, preferentially on the cheek if it was affected. Both the clinical

and microscopic examinations were performed by the same investigators.

Investigated dermatoses

Based on the literature and clinical experience, the facial cutaneous changes suggesting a demodicosis, and thereby justifying SSSB, for the 10 dermatologists were defined as: (1) subjective symptom such as pruritus, burning sensation, rough skin, or dry skin; (2) pityriasis folliculorum consisting of very small and discreet follicular scales regularly dispersed; the scales are dry, fine and whitish, forming follicular plugging with typical frosted appearance and rough texture (sandpaper-like consistency on palpation).^{11,14} A diffuse flushing or erythema with follicular accentuation is usually described.^{11,14,32} Sometimes, the skin can have a greasy aspect because the thin dry scales are recovered by a layer of sebum. Therefore, the diagnosis becomes easier after cleaning the skin with ether and by tangential illumination: the thin whitish follicular scales then become more evident. In clinical practice, patients present with mainly subjective symptoms and the dermatologist can observe this very discreet picture by close examination (Fig 2, A); (3) erythematotelangiectasic rosacea, diagnosed on the basis of the recent consensus,⁶⁰ can reveal a pityriasis folliculorum by close examination; (4) PPR diagnosed on the basis of the recent consensus (Fig 2, B and C)⁶⁰; (5) granulomatous rosacea^{21,23,24,26,27,29}; (6) isolated inflammatory papule on the face (Fig 2, D)²²; (7) folliculitis¹⁶

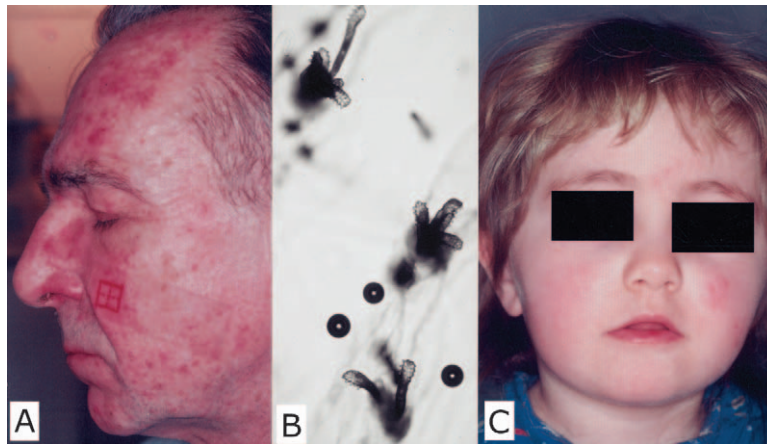


Fig 1. Standardized skin surface biopsy. **A**, Sampling method. **B**, Direct microscopic examination during consultation: 3 follicles with 3 to 5 *Demodex folliculorum* per follicle ($\times 90$). **C**, This method is a useful, fast, and noninvasive diagnosis tool, allowing to diagnose, for example, this discreet papulopustular rosacea on 2-year-old girl who is immunocompetent ($Dd = 10 \text{ D/cm}^2$).

consisting of follicular pustules without pityriasis folliculorum or hypervascularized ground (Fig 2, E); (8) hyperpigmentation consisting of blotchy, brownish pigmentation of the face, most marked around the follicle opening,^{14,61} in association with follicular scales,¹⁴ and in the absence of oral contraceptive or pregnancy (Fig 2, G); (9) blepharitis,¹⁹ conjunctivitis, or meibomite, with cylindric scales around the base of the eyelashes (Fig 2, H)^{2,13,34,35}; the dermatologist confirms the ocular impairment associated with Demodex by observing some mites on 4 to 5 epilated lashes. The Demodex blepharitis^{13,19,34,36} can exist with or without facial demodicosis,¹⁹ and is a chronic disease that does not respond to usual therapies^{35,36}; and (10) follicular eczematids consisting of borderline atypical pictures, suggesting an atypical seborrheic dermatitis or an atypical rosacea, with hillocky skin, often erythematous, with orange peel aspect and/or dilated follicular orifices,^{2,19} some potential papules, irregularly dispersed and not only follicular scales (Fig 2, D).

Inversely, patients with typical seborrheic dermatitis alone were not considered.

Demodicosis: Diagnostic criteria

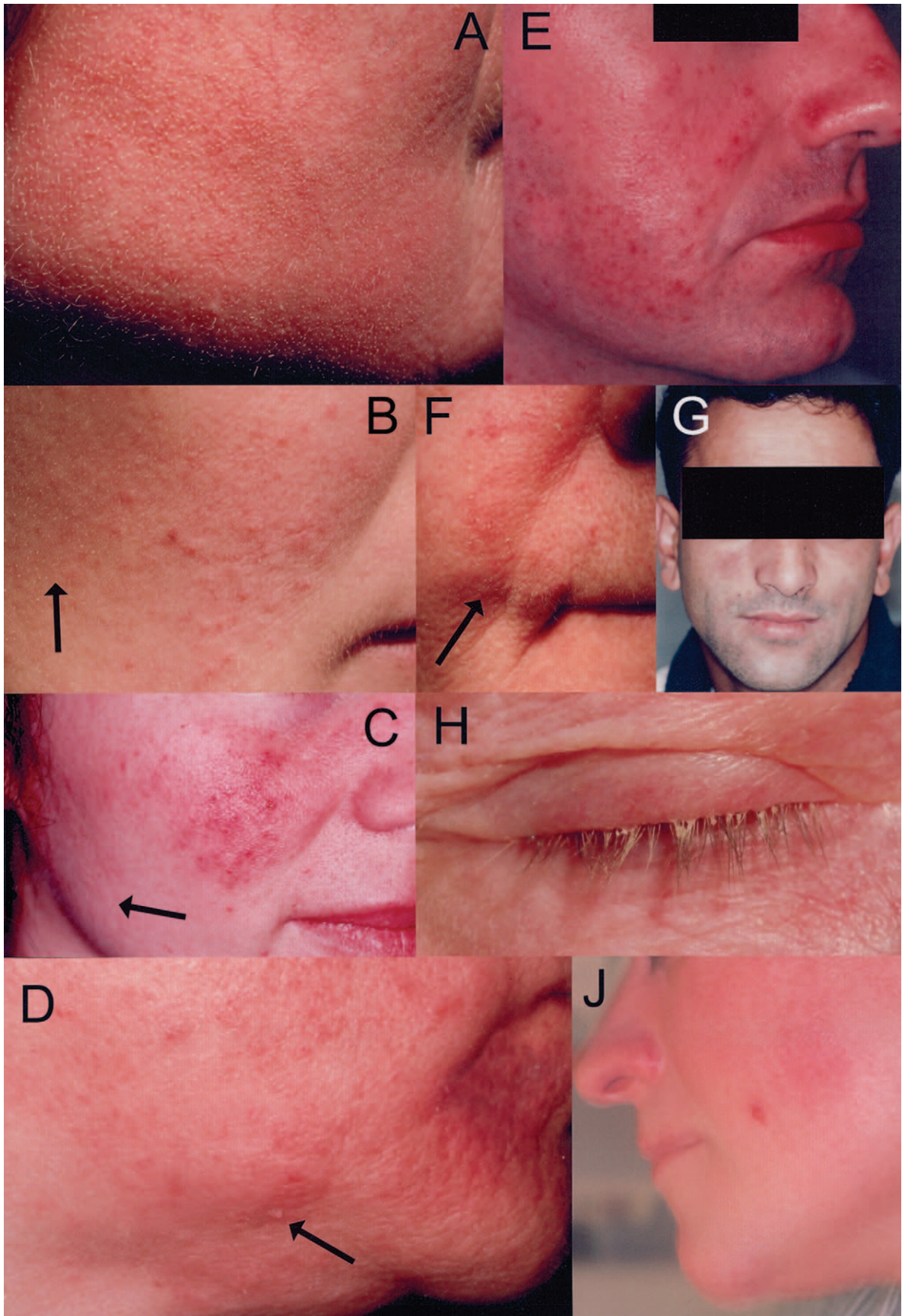
The diagnosis of demodicosis was confirmed when one of these suggestive clinical manifestations was combined with a high Dd: $Dd > 5 \text{ D/cm}^2$ after one SSSB, or $Dd > 10 \text{ D/cm}^2$ after two successive SSSBs at the same place (sum of the two successive densities in case of $Dd \leq 5 \text{ D/cm}^2$ at the first SSSB). Our study being an epidemiologic study, the impact of the treatment was not analyzed.

Data collection

If the diagnosis of demodicosis was confirmed, the dermatologist completed a questionnaire about that patient: (1) the general immune status of the patient was evaluated by questions (diabetes, pregnancy, known immunosuppression [treatment, HIV], suggested immunosuppression [frequent infections]) and by the global evaluation of the dermatologist (“good” or “bad” general status); (2) were researched based only on the clinical history and clinical examination: 4 associated pathologies (atopic status, seborrheic dermatitis, thyroid pathology, *Helicobacter pylori* infection), other skin associated pathology, use of medication; and (3) differential diagnosis was examined—outside this study, it was asked which kind of diagnoses the dermatologist would give to the demodicosis.

Based on daily medical files, each dermatologist completed two grids concerning all diagnoses encountered each day. In the first grid, for each patient, the number of different dermatologic diagnoses given during the same consultation was noted. In the second grid, for each diagnosis, in front of 150 prelisted diagnoses, it was noted whether this had been a patient’s first consult for this diagnosis (new diagnosis) or not (follow-up) and whether it was the main aim of the consultation (main diagnosis) or not (minor diagnosis). Patients with demodicosis were recorded in the same way.

If the same patient presented two or more clinical manifestations of demodicosis (eg, pityriasis folliculorum and blepharitis), the patient was accounted for once on the grid as demodicosis, but each of its different clinical manifestations was separately accounted for in the questionnaire.



Quality of the data

During the second and fifth period, dermatologist no. 10 did not participate in the study. For this reason, the means/wk take into account this absence: they are calculated on the basis of 48 weeks of observation.

Of 46 patients (21 with erythematotelangiectatic rosacea, 10 with perioral dermatitis, 9 with PPR, one with granulomatous rosacea, one with eczematid, 4 nonspecified), the dermatologists suspected a high Dd clinically but did not perform the SSSB either the first or the second time (when the first shows a $Dd \leq 5 \text{ D/cm}^2$) because of lack of time, no lamina for microscope, or patient did not agree. Of the 10 patients with perioral dermatitis, 7 were seen by 4 dermatologists who did not perform the SSSB because it was unfortunately not prescribed in the protocol. As these 46 patients were insufficiently investigated, they were not included in the analysis.

A topical treatment can potentially influence the clinical symptoms and/or the Dd. For these reasons, patients receiving topical treatment were excluded from the analysis of the clinical symptoms and Dd. The topical treatment was considered if it was used during the last 3 months and for more than 1 week.

Dermatologist neglected to record the main diagnosis ($n = 81$) or facts concerning the demodicosis: the duration of the demodicosis ($n = 20$), the diagnosis put to the demodicosis outside the frame of this study ($n = 10$), the objective signs ($n = 2$), the location of the SSSB ($n = 2$), associated immunosuppression ($n = 3$), use of soap ($n = 4$), and use of cosmetic cleansers and cream ($n = 1$). These patients were included and incomplete observations were recorded as missing data.

Statistical analysis

The occurrence of a diagnosis in the clinical practices was found to fit a Poisson distribution, where "m" is equal to the mean observed cases. This distribution is used to represent the mean frequen-

cies and their 95% confidence limits. Qualitative data and aggregated diagnoses fit the normal approximation of the binomial distribution.

Comparisons of qualitative data were tested by the chi-square test or Fischer's exact test when indicated by the lack of validity of the first test because of small expected values. Categorical comparisons of quantitative data were tested by analysis of variance (ANOVA). Dds were counting data. Their SDs were close to the mean. The homogeneity of variances was checked by Levene's test while performing the ANOVA and was improved by performing a square root transformation of the densities. Because ANOVA on transformed data never dramatically changed the results of the ANOVA on rough data (which are known to be robust), the results are those on rough data. The significance level is .05, within 2-sided alternative hypotheses excepted when a clear 1-sided hypothesis was formulated in the protocol. These cases are pointed out in the Tables 1 to 3. Ad hoc routines (Excel 2000; Microsoft, Inc, Redmond, Wash) and Statistica software⁶² were used for computation.

RESULTS

Ten dermatologists observed 3213 patients during the 5 periods of observation ($712 + 558 + 626 + 704 + 613$). These patients came to dermatologic consultation for 4372 diagnoses ($m = 1.36$ diagnoses/patient): 2579 (59%) new and 1793 (41%) follow-up. Most of the patients consulted for only one diagnosis (73%), 20% for two diagnoses, 5% for 3 diagnoses, 1.5% for 4 diagnoses, and 0.5% for 5 or more diagnoses.

Each week, on average, each dermatologist included 67 patients in the study and made 91 diagnoses: 54 new, 37 follow-up, and 65 main. Considering each dermatologic disease separately, we limited the presentation of the results as the 20 most frequent diagnoses, giving therefore an idea of 60% to 75% of the global activity of the dermatologist

Fig 2. Clinical manifestations of some demodicoses. Progressive appearance of the immune reaction (A-C), and overlapping among different clinical manifestations following our physiopathologic hypothesis. **A**, Pityriasis folliculorum for 20 years, on right cheek of 52-year-old woman, with 308 D/cm^2 : very discreet, more visible after passage with ether, each follicular scale corresponds to numerous opisthosomes of *Demodex folliculorum*, protruding through follicular orifice. **B**, Discreet papulopustular rosacea for 8 years on right cheek of 36-year-old woman, with 51 D/cm^2 ; patient specifies that papulopustules were more discreet when she was pregnant. We can observe follicular scales on lateral part of cheek (arrow). **C**, Papulopustular rosacea for 3 months, on right cheek of 34-year-old woman, with 70 D/cm^2 ; we can observe hillocky skin on lateral part of cheek (arrow). **D**, Follicular eczematids on right cheek and chin of 45-year-old woman, with 129 D/cm^2 : erythema, dilated orifices on chin, hillocky skin, some papules and nonfollicular scales (arrow). **E**, Folliculitis on 31-year-old man, with 59 D/cm^2 . **F**, Pityriasis folliculorum (arrow) associated with seborrheic dermatitis on right nasolabial fold of 76-year-old woman, with 65 D/cm^2 . **G**, Hyperpigmentation on right cheek of 27-year-old man, with phototype V, with 114 D/cm^2 on right cheek and 10 D/cm^2 on left cheek. **H**, Blepharitis with cylindric scales around base of eyelashes on 71-year-old man, with 7 D on 4 epilated lashes. **J**, Isolated inflammatory papule in 41-year-old woman, with 90 D/cm^2 .

Table III. Demodex density at the first standardized skin surface biopsy according to the clinical pattern of the demodicosis (83 patients without topical treatment)

Clinical pattern	Patients		Demodex density		P
	n	(%)	Mean	Min-Max	
Pityriasis folliculorum	45	(54%)	61	4-396	.035*
Papulopustular rosacea	31	(37%)	36	8-112	.07
Follicular eczematids	6	(7%)	46	7-178	NS
Folliculitis	6	(7%)	49	9-144	NS
Ocular manifestations	4	(5%)	36	23-62	NS
Hyperpigmentation	3	(4%)	134	45-276	.02
Isolated inflammatory papule	1	(1%)	4	4-4	NS
All patients	83	(100%)	51	4-396	NS

NS, statistically non significant difference from the group of the others; *min*, minimum; *max*, maximum.

*One-sided test.

(65% of all diagnoses, 60% new, 75% follow-up, and 69% main) (Fig 3). Each dermatologist had a 95% chance to observe from 2 to 15 warts and from 1 to 13 cases of acne per week. On average, 8.5 warts and 6.9 cases of acne were diagnosed each week. Each dermatologist had a 95% chance to observe from 0 to 6 demodicoses per week: 2.4 demodicoses/wk on average (1.2 new and 1.2 follow-up). Globally, 115 patients with demodicosis were collected: 56 new diagnoses, 59 follow-up, and 80 main. The proportion of demodicoses varied greatly in function of the dermatologist: 0% to 9.2% of their patients ($P = .00$). In contrast, no statistically significant difference of Dd was observed according to the dermatologist ($P = .5$) (Table II). No seasonal fluctuation was observed in the proportion of demodicoses: 3.9% in June, 3.2% in September, 4.0% in December, and 2.8% in March ($P = .6$). Moreover, no difference in the proportion of demodicoses was observed at 1 year of interval ($P = .15$).

Among the 115 patients with demodicosis, 71.3% were female (82 women and 33 men; sex ratio 2.5). The mean age was 49 years; women were younger ($m = 46$ years; range 20-83) than men ($m = 57$ years; range 30-98) ($P < .002$). Patients with pityriasis folliculorum ($m = 52$ years; range 22-98) were older than patients with other demodicoses ($m = 45$ years; range 20-98) ($P = .04$). The 115 patients presented 134 demodicoses, some patients presenting more than one clinical manifestation of high Dd. The demodicoses were present for a mean of 5 years and 2 months, (range 15 days-30 years).

In all, 72 patients with demodicosis (63%) were treated with oral medications: one chemotherapy, 3

antibiotics, 8 antidepressants, 4 medications for the stomach, 18 for hypertension, 6 for thyroid, 31 estroprogestative, and 34 others. One patient received corticoid by inhalation and nasally. In all, 32 patients were treated with a topical treatment on the face: 11 metronidazole, 10 corticoids, and 17 others.

The general status of patients with demodicosis was good in 96% of the cases (110/115). Three patients had known immunodeficiency (3%) (one patient with HIV, one patient under dialysis, one patient who received azathioprine and corticoids stopped 5 months before). No patients was pregnant or had suggested immunodeficiency. In all, 20 (17%) presented an atopic ground, 10 (9%) presented a seborrheic dermatitis, 7 (6%) had a thyroid disease, 3 (3%) were diabetic, and only one had a known *H pylori* infection. Among other dermatoses seen in patients with demodicosis, we observed: 6 androgenic alopecia, 5 naevi, 4 folliculitis, 3 aesthetic problems, 3 seborrheic keratosis, 3 intradermal naevi, 3 actinic keratosis, 3 varices, two atopic dermatitis, two dermatophyte infections, two pilar or epidermoid cysts, two lentigos, two mollusca pendula, and 18 other isolated diagnoses.

In all, 18 cases of erythematous telangiectatic rosacea without high Dd were collected: 4 of them corresponded to a cured demodicosis after topical acaricidal treatment.

In all, 57 patients presented PPR: 42 had Dd > 5 D/cm² at the first SSSB (11 topically treated and 31 without topical treatment) and were included in the 115 demodicoses, 6 had low Dd (Dd ≤ 5 /cm² at the first SSSB and ≤ 10 after two SSSB), and 9 were not sufficiently investigated (the first SSSB showed ≤ 5 D/cm², but the second SSSB was not performed). Of the 6 patients with PPR and low Dd, 4 were seen by the same dermatologist.

If the dermatologists had not been trained to diagnose demodicosis in the frame of this study, in place of the 115 demodicoses diagnoses, they would have given as diagnoses: 64 demodicoses, 24 PPR, 5 erythematous telangiectatic rosacea, 5 seborrheic dermatitis, one perioral dermatitis, two "other" dermatitis, one phyma with seborrhea, 3 mixed form of demodicosis (one with erythematous telangiectatic rosacea and two with seborrheic dermatitis), and 10 nonspecified.

The mean Dd was 47 D/cm² at the first SSSB among the 115 patients with demodicosis (range: 3-396). In 6 patients (5.2%), Dd was ≤ 5 D/cm² at the first SSSB, but nevertheless the diagnosis could be confirmed by a high Dd at the second SSSB on the same place (9, 16, 32, 52, 72 and 114 D/cm²).

From these 115 patients with demodicosis, the 32 patients receiving a topical treatment were excluded

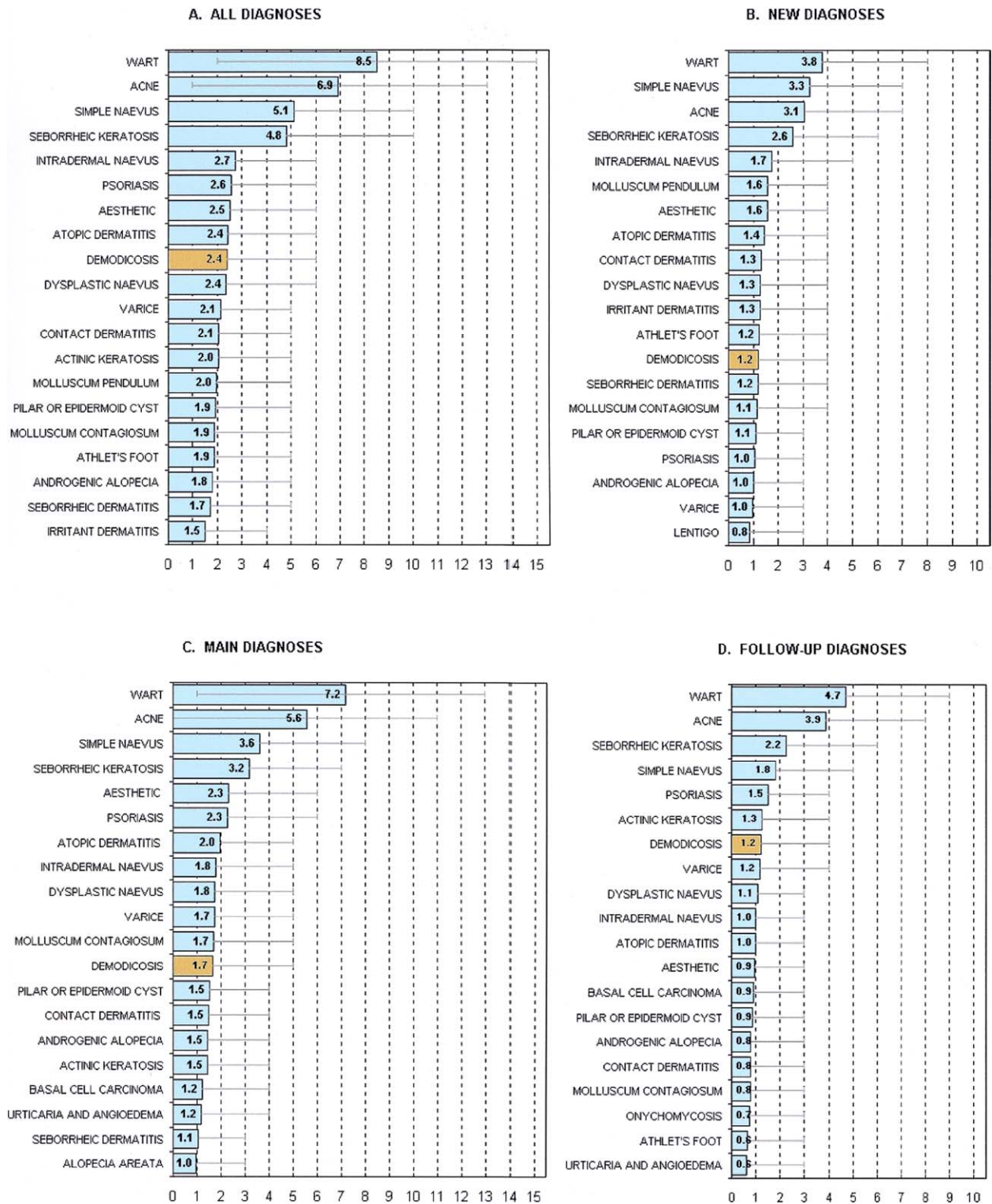


Fig 3. Weekly mean diagnoses per dermatologist on basis of 67 patients seen weekly, among 4 categories of diagnoses. Error bars indicate 95% confidence limits. Wart comprises all types of warts (eg, flat, plantar, condyloma); atopic dermatitis comprises variants (eg, atopic dry skin, plantar juvenile dermatitis); varices comprises varicose problems (eg, ulcer, dermatitis).

from the following analyses. Among the 83 patients without topical treatment, the mean Dd was 51 D/cm² (range: 4-396). Comparing each clinical pattern with all others (Table III), we observed that two demodicoses had a higher Dd than the others: hyperpigmentation and pityriasis folliculorum. On the other hand, PPR seemed to have a lower Dd than the others, the difference approaching the significant limit: this value was nonsignificant probably as a result of the small size of the sample. Therefore, as hypothesized, the mean Dd was higher in pityriasis folliculorum than in PPR ($P = .04$, 1-sided test).

Among these 83 patients, the location of the SSSB was mainly the cheek (n = 71 [86%]), the others being the chin (n = 6 [7%]), the nose (n = 2 [2%]), the forehead (n = 1 [1%]), the inferior eyelash (n = 1 [1%]), and two nonspecified locations (n = 2 [2%]). Dd was higher when the SSSB was performed on the cheek (54 D/cm²) than in other locations (33 D/cm²), but the difference was statistically nonsignificant ($P = .14$).

The majority of patients (n = 50 of 81, 62%) did not use soap to wash their face ($P < .03$); 38 of 83 (46%) used cosmetic cleanser and 46 of 83 (55%) used cosmetic creams.

The 83 patients without topical treatment presented 96 demodicoses (Table III), some patients presenting more than one clinical manifestation of high Dd. Their subjective symptoms were: flushes (46%), dry skin (30%), pruritus (29%), tight feeling (27%), rough texture sensation (24%), hyperreactive skin (23%), burning sensation (12%), prickling (1%), and hyperseborrhea (1%). Their objective symptoms were: follicular scales (71%), telangiectasia (63%), papules (40%), erythema (35%), pustules (25%), dilated follicular orifices (10%), hillocky skin (7%), orange peel aspect (6%), and nonfollicular scales (4%).

In 23% of both pityriasis folliculorum and demodicoses, no vascular symptom was observed; flush appeared in only 33% of the patients with pityriasis folliculorum, erythema in 29%, and telangiectasia in 58%.

DISCUSSION

Demodicosis is already described in children⁶³⁻⁶⁶ (Fig 1, C) and adults^{3,14,30,32,67} who are immunocompetent. Moreover, some authors demonstrated that immune suppression alone is not sufficient to increase Dd (Table I).^{3,9,10} From our study, patients with demodicosis appear to be in good health (96%). Seven patients (6%) had thyroid disease, as frequency found by Akilov et al⁶⁸ (4 of 66 [6.1%]), that is to say a little higher frequency than in the Belgian population (4%).⁶⁹ This can be explained by the high

female percentage (71.3%) in the group: the prevalence of thyroid disease is indeed higher among women (6.1%) than among men (1.7%).⁶⁹ Three patients were diabetic: this frequency (3%) is similar to the prevalence in the general population in Belgium (2.3%).⁷⁰ The Demodex proliferation seems to be controlled mainly by cellular and humoral immunity,^{68,71,72} which are normal among patients with diabetes (they are only affected by a polymorphonuclear dysfunction).⁷³ Therefore, the higher Dd observed among patients with diabetes in two studies^{8,33} can be explained by their peripheral vascular insufficiency, which reduces the ability of the immune system to control mites.³³

Only 3 of 115 (3%) patients had known immunodeficiency: it appeared to us to be unethical to perform invasive investigations, to search unlikely asymptomatic immune deficiency, with patients in apparent good health only because they had demodicosis. The role of an eventual immunologic predisposition, genetically determined by HLA phenotypes,⁷⁴ to develop demodicosis is possible; but if it exists, it is therefore common within healthy populations, and so does not need to be considered as a real, deep immunodeficiency. In the rare cases where a deep immunodeficiency exists, *Demodex* proliferation certainly is easier, but our study shows that this condition is not essential at all.

In 2001, Akilov and Smirnova⁷⁵ found a mean demodicoses prevalence of 39:100,000 and an incidence of 17:100,000 a year in the general Russian population. The proportion of new diagnoses (42%) was lower than in our study (50%). Akilov and Smirnova⁷⁵ observed a frequency of demodicoses not exceeding 2.1% of all skin diseases, which is confirmed by our observation (2.6% [115/4372 diagnoses]). The small difference could be explained by the study design: Akilov and Smirnova⁷⁵ analyzed retrospective data from annual reports from 1992 to 1999, whereas we did a prospective study, which therefore increases the dermatologists sensitivity to the diagnosis of demodicosis.

Actually, outside the context of the study, only 64/115 demodicoses would have been diagnosed: it appears evident that demodicoses are today commonly underdiagnosed, and are masked behind other diagnoses such as PPR, erythemato telangiectasic rosacea, seborrheic dermatitis, perioral dermatitis, contact dermatitis, atopic dermatitis,⁶³ phyma, seborrhea, etc.

Half of the dermatologists who partook in this study rarely to never diagnosed demodicosis before the study: this demonstrates the current wide variation in understanding of relevance of *Demodex* infestation among dermatologists. Moreover, a great

variability in the frequency of demodicoses was observed beyond the dermatologists during the study (Table II). This variability could be determined by an unequal sensitivity to the diagnosis: the dermatologists who diagnosed most demodicoses are those who were already trained to detect the clinical symptoms and to read SSSB before the study (Table II). Some other factors could explain a lower proportion of demodicoses: the consultation planning with a shorter available time per patient might possibly have decreased the quality of the SSSB for dermatologists who had little technical training, and could also result in a larger number of patients who were insufficiently investigated. On the other hand, other factors might increase the proportion of demodicoses in the consultation of others: long training for this kind of diagnosis, reputation of the dermatologist among the population, and socioeconomic factors favoring proliferation of the mite (skin washing without soap). By the way, this variability reflects the reality of the variations encountered in daily practice. Our study has a positive impact on the less trained dermatologists: it increases dermatologist awareness to this diagnosis, and most of them diagnosed demodicoses more frequently after the study than before (Table II).

Our data analysis leads us to believe that the observed frequencies are minimal: some demodicoses are probably masked behind some of the 46 insufficiently investigated suggestive dermatoses, or even perhaps behind some of the 4 PPR with $Dd \leq 10 D/cm^2$ seen by the same dermatologist.

From our data, demodicosis appears to be the 9th most frequent diagnosis in a dermatologic consultation. In other words, the dermatologist encounters as many demodicoses as atopic dermatitis and dysplastic naevi (Fig 3). Comparing the profile of new diagnoses (Fig 3, B) with that of all diagnoses (Fig 3, A), demodicosis decreases in the frequency score (9th-13th) as other chronic dermatosis. Naturally, demodicosis increases when we consider only the follow-up diagnoses (Fig 3, D). These profiles give evidence of the need to follow up demodicoses, and, therefore, of its socioeconomic importance. Demodicosis was 12th among the main diagnoses; that means that demodicosis is as often the main reason to consult as varicous pathology and mollusca contagiosa. This reflects the importance given by the patient to demodicosis (Fig 3, C).

Our results do not confirm the usual opinion that demodicoses frequency increases in spring.⁴

Among the 115 demodicoses, 6 present also an androgenic alopecia. It is possible that some of these are partly caused by *Demodex* proliferation in the scalp.^{76,77} Ten (9%) present a seborrheic dermatitis;

Demodex and *Malassezia furfur* inhabiting the pilosebaceous follicles, a common favorable ground perhaps exists for the two micro-organisms, or perhaps their association is beneficial to each other. Other dermatologic diagnoses associated to demodicoses seem to be nonsignificant.

Follicular scales (71%) and telangiectasia (63%) were the most frequent symptoms of demodicoses. Without being pathognomonic, they appear to be highly suggestive for a demodicosis.

Pityriasis folliculorum was the most frequently encountered demodicosis (54%) (Table III). Its prevalence was higher among older patients, but it occurs in young patients (from 20 years old in our study). As we can see on the scanning electron microscopy views of Crosti et al,⁷⁸ each of the classic follicular scales^{11,14} (Fig 2, A) corresponds to the numerous opisthosomes of the *Demodex folliculorum*, protruding through the follicular orifice (Fig 4), giving often a false sensation of dry skin. The usually described vascular symptoms^{11,14,32} were observed in 77% of our patients with pityriasis folliculorum. Therefore, although frequently associated, vascular symptoms are facultative to retain the diagnosis of pityriasis folliculorum. Hyperpigmentation^{14,61} associated to pityriasis folliculorum (n = 3) is probably a postinflammatory pigmentation secondary to the chronic high Dd.

On the other hand, rosacea is known by all dermatologists as a common dermatosis.⁷⁹ In the United States, each dermatologist reported approximately 138 rosacea visits per year⁸⁰; in Denmark, it concerns 0.5% to 1% of new diagnoses in dermatologic departments⁸¹; and in Sweden, erythematotelangiectasic rosacea concerns 8%, and PPR 2% of a nonselected population.⁸² We found a similar frequency for PPR (1.7% [57 PPR/3213 patients]), but in the selected population of our consultation. Therefore, the frequency is probably lower than in Sweden. Indeed, the difference of rosacea prevalence in function of the country is probably linked to the difference of phototypes and, thus, to the genetic ground. Rosacea is known to affect mainly Caucasian patients,⁸⁰ and is rarely seen on dark skin. We can suppose that the sun promotes PPR by: (1) dermal damage, which is, among other factors, responsible for erythematotelangiectasic rosacea, which itself seems to promote mite proliferation; and (2) its local immunosuppressive action on cell-mediated immunity,⁸³ which could make mites proliferate more easily. In dark skin, pigment protects against these two factors.

Patients with PPR are clearly demonstrated to have a higher Dd than control subjects³⁻⁷ (Table I). In our previous study in 1993, we found 18/33 cases of

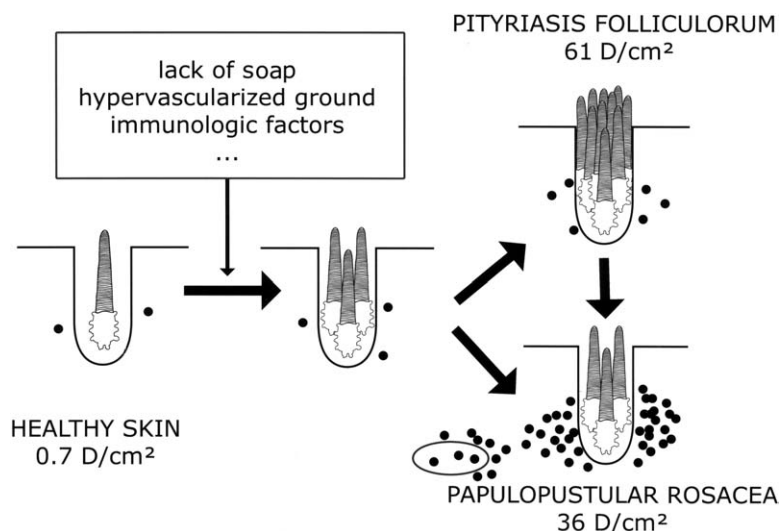


Fig 4. Physiopathologic hypothesis of pityriasis folliculorum and papulopustular rosacea. Numbers indicate mean of Demodex density.

PPR (55%) with $Dd > 5$.³ In the current study, we found 42/57 cases of PPR (74%) with $Dd > 5$ at the first SSSB. The higher proportion of PPR with high Dd in the current study can be explained by the cleaning of the skin with ether before the SSSB; it increases the quality of the sampling. Therefore, the sensitivity of the test increases from 0.55³ to 0.74.

Excluding the 9 PPR insufficiently investigated, our study confirms that PPRs with normal Dd are rare (maximum 6/48) whereas those with high Dd are frequent (42/48). The PPR is, after the pityriasis folliculorum, the second most frequent demodicosis (Table III).

A future study needs to be made to control the Dd in healthy skin with this improved SSSB. From our daily experience, Dd in normal skin does not appear to increase after ether cleaning. When Demodex is present in very low density, this cleaning does not change the sample very much. Moreover, in such a study, it is very difficult to constitute a true control group for older patients,³ because nearly all patients older than 50 years have some telangiectasia on their cheeks (secondary to lifetime sun exposure). It is impossible to give an objective limit between "some appearing vessels" and "a discreet erythematous telangiectatic rosacea." In fact, in cases of discreet lesions, the diagnosis of telangiectasia depends essentially on the subjectivity and the visual acuity of the investigator.⁴⁶ Therefore, as Gessert and Bamford,⁸⁴ we would underline the need to establish at first a precise consensus definition of erythema and telangiectasia, based on objective and reproducible criteria, conditions for standardized selection of control groups in older patients. Moreover, it is important

to exclude any pityriasis folliculorum, which is often very discreet, from such control groups.

In 1993, Bonnar et al⁴ showed a particularly higher Dd on the face of patients with steroid-induced rosacea (6.9 D/cm²) compared with patients with PPR (3.5 D/cm²) and control subjects (0.7 D/cm²; $P < .01$). This suggests that Dd increases when local immune response decreases. In the same way, we observed a very high Dd in pityriasis folliculorum (61 D/cm²), which is characterized by discreet inflammatory symptoms (erythema, telangiectasia), compared with a relatively lower Dd in PPR (36 D/cm²), which is characterized by an important inflammatory response (papules, pustules) (Table III). Patients with pityriasis folliculorum are also a little older and it is known that older patients have lower immune reactions. All this suggests that, in pityriasis folliculorum, a low immune response is responsible for a larger proliferation of the mite, and in parallel, in PPR, the more intense immune reaction impairs the mite proliferation, and decreases the Dd (Figs 2 and 4).

Three hypotheses could explain the normal Dd in rare cases of PPR (6/48): (1) these cases may include some false-negative results at the SSSB; (2) they may be related to a *D brevis* proliferation (these last, living deeper in sebaceous and meibomian glands, are not detected by the SSSB); or (3) the immune reaction may have succeeded in eliminating the major part of the mites but it nevertheless persists a long time, as it can be observed in delayed-type hypersensitivity reaction of tuberculoid lepra, where microorganisms cannot easily be found.⁸⁵ In several cases of demodicosis occurring in patients who are

immunodeficient, the inflammatory process, induced probably by the Demodex proliferation, is reported to become clinically obvious when the immunity of the patient is beginning to be restored.^{49,50,53,57} These observations coincide with an hypersensitivity reaction: the immune reaction of the host is more at the origin of the lesions than the pathogen itself.⁸⁵

Thus, the following physiopathologic hypothesis of the demodicoses could be proposed (Fig 4): 3 factors seem to favor Demodex proliferation: hyper-vascularized ground (erythemato telangiectasic rosacea), lack of washing, and immune status. When they are numerous, Demodex become clinically visible. The opisthosomes, brought together around the hair on the follicular orifice,⁷⁸ appear as white follicular scales (pityriasis folliculorum). At this level, the density is generally very high (4-396 D/cm², m = 61). Some patients develop a type IV hypersensitivity reaction,^{3,25,71,72} expressing as papulopustules (PPR). This is a means of defense against the mite proliferation. The Dd is lower in PPR than in pityriasis folliculorum. In the case of mite penetration in the dermis,²¹⁻²⁹ or simply because the immune stimulation persists,⁸⁵ granuloma with giant cells occurs inside this immune reaction (isolated inflammatory papule and granulomatous rosacea). At the lid level, the proliferation of Demodex inside the meibomian glands could be responsible for the meibomian gland dysfunction observed in rosacea and, therefore, of the secondary ocular surface impairment.⁸⁶⁻⁸⁸

These considerations have direct implications in daily practice. The treatment of PPR should consist not only of fighting sun damage (sunscreens), flushes (clonidine), inflammation, and hypersensitivity reaction (metronidazole, tetracycline), but also to fight Demodex proliferation. This should decrease relapses of PPR.

Most of our patients (62%) did not use soap to wash their faces, which confirms the observation already made in 1930 by Ayres^{11,14,37}: washing with soap and water probably helps to fight the mite proliferation by mechanical (face cloth) and chemical (soap) action. It appears, therefore, essential to wash the skin twice a day, with a gentle soap, lukewarm water, and face cloth, and at the lid level, to clean the free margin of the eyelids, as ophthalmologists recommend in ocular demodicosis¹⁹ and ocular rosacea.^{88,89}

We recommend applying a topical acaricidal treatment 2 to 3 minutes after facial washing, on a well-dried skin (crotamiton 10% in the morning and crotamiton 10% plus benzyl benzoate 12% in the evening), in a thin layer, all over the face, except the

eyelids, until normalization of Dd (2-12 months); then, if necessary, continued evening cream 3 times/wk to keep Dd normal. The excipient can be an oil in water cetyl cream or, for thin and sensitive skins, an anti-irritating cosmetic cream. In practice, this treatment provides good results, but cannot be used directly on irritated skin, and must be well explained to the patient.

CONCLUSION

If demodicoses can occur for patients who are immunodeficient, they represent, above all, a common dermatologic problem occurring among patients who are immunocompetent. Although demodicoses are presently greatly underdiagnosed, they nevertheless concern the daily practice of the dermatologist.

We thank the pharmaceutical company Janssen-Cilag for its logistic support during the course of this study.

REFERENCES

1. Ruffi T, Mumcuoglu Y. The hair follicle mites *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis*: biology and medical importance. *Dermatologica* 1981;162:1-11.
2. Norn MS. *Demodex folliculorum*: incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull* 1971;18:14-7.
3. Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993;128:650-9.
4. Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:443-8.
5. Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on *Demodex folliculorum* in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997;27:183-95.
6. Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998;37:421-5.
7. El Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Abdel Aaty HE. The pathogenesis of *Demodex folliculorum* (hair follicular mites) in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 2001;31:867-75.
8. Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu AK, Harman M, Alp S, Bahceci S. Is *Demodex folliculorum* larger in diabetic patients?. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002;16:539-41.
9. Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. *Demodex folliculorum* in renal transplant patients. *Dermatology* 1997;195:232-4.
10. Aydingöz IE, Dervent B, Güney O. *Demodex folliculorum* in pregnancy. *Int J Dermatol* 2000;39:743-5.
11. Ayres S. Pityriasis folliculorum (*Demodex*). *Arch Dermatol Syph* 1930;21:19-24.
12. Ayres S, Jr, Anderson NP. Acne rosacea: response to local treatment for *Demodex folliculorum*. *JAMA* 1933;100:645-7.
13. Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. *Arch Dermatol* 1967;95:63-6.
14. Ayres S, Jr, Ayres S, III. Demodectic eruptions (demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961;83:816-27.
15. Ruffi T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S. *Demodex folliculorum*: Zur Ätiopathogenese und Therapie der Rosazea und der perioralen Dermatitis. *Dermatologica* 1981;162:12-26.
16. Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:1159-62.

17. Hojyo T, Dominguez L. Demodicosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cutan Iber Lat Am* 1976;2:83-90.
18. Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:915-7.
19. Morgan RJ, Coston TO. *Demodex* blepharitis. *South Med J* 1964;57:694-9.
20. Burns DA. Follicle mite and their role in disease. *Clin Exp Dermatol* 1992;17:152-5.
21. Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. *Demodex folliculorum* und die Histogenese der granulomatösen Rosacea. *Hautarzt* 1974;25:166-77.
22. Seifert HW. *Demodex folliculorum* als Ursache eines solitären tuberkuloiden Granuloms. *Z Hautkr* 1977;53:540-2.
23. De Dulanto F, Camacho-Martinez F. Demodicidose "gravis." *Ann Dermatol Venereol* 1979;106:699-704.
24. Ecker RI, Winkelmann RK. *Demodex* granuloma. *Arch Dermatol* 1979;115:343-4.
25. Forton F. *Demodex* et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol* 1986;113:1047-58.
26. Kharfi M, Zarrouk H, Nikkels AF, Mokhatar I, Fazaa B, Arrese Estrada J, et al. Granulomatous rosacea and demodicidosis. *Am J Dermatopathol* 1991;4:39-43.
27. Helm KF, Menz J, Gibson LE, Dicken CH. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1991;25:1038-43.
28. Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995;133:294-9.
29. Pena GP, Andrade Filho JS. Is *Demodex* really non pathogenic? *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2000;42:171-3.
30. Forton F, Seys B, Marchal JL, Song M. *Demodex folliculorum* and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1998;138:461-6.
31. Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*: a case report. *Br J Dermatol* 1998;139:697-700.
32. Dominey A, Tschen J, Rosen T, Batres E, Stern JK. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:81-4.
33. Clifford CW, Fulk GW. Association of diabetes, lash loss, and *Staphylococcus aureus* with infestation of eyelids by *Demodex folliculorum* (Acari:Demodicidae). *J Med Entomol* 1990;27:467-70.
34. Smith S, McCulloch C. *Demodex folliculorum* palpebrarum. *Can J Ophthalmol* 1969;4:3-15.
35. Post CF, Juhlin E. *Demodex folliculorum* and blepharitis. *Arch Dermatol* 1963;88:298-302.
36. Junk AK, Lukacs A, Kampik A. Lokale Anwendung von Metronidazol-gel als wirksame therapiealternative in der Behandlung der chronischen *Demodex*-Blepharitis-ein Fallbericht. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998;213:48-50.
37. Ayres S, Jr, Anderson NP. *Demodex folliculorum*: its role on the etiology of acne rosacea. *Arch Dermatol Syph* 1932;25:89-98.
38. Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. *Demodex folliculorum* ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol* 1981;116:489-91.
39. Sahn E, Sheridan D. Demodicidosis in a child with leukemia. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:799-801.
40. Sanchez-Viera M, Hernanz JM, Sampelayo T, Gurbindo MD, Lecona M, Soto-Melo J. Granulomatous rosacea in a child infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:1010-1.
41. Ivy SP, Mackall CL, Gore L, Gress R, Hartley H. Demodicidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr* 1995;127:751-4.
42. Barrio J, Lecona M, Hernanz JM, Sanchez M, Gurbindo MD, Lazaro P, et al. Rosacea-like demodicosis in an HIV-positive child. *Dermatology* 1996;192:143-5.
43. Castanet J, Monpoux F, Mariani R, Ortonne JP, Lacour JPH. Demodicidosis in an immunodeficient child. *Pediatr Dermatol* 1997;14:219-20.
44. Patrizi A, Trestini D, D'Antuono A, Colangeli V. Demodicidosis in a child infected with acquired immunodeficiency virus. *Eur J Pediatr Dermatol* 1999;9:25-8.
45. Benessahraoui M, Paratte F, Plouvier E, Humbert P, Aubin F. Demodicidosis in a child with xantholeukaemia associated with type 1 neurofibromatosis. *Eur J Dermatol* 2003;13:311-2.
46. Morras PG, Santos SP, Imedio IL, Echeverria ML, Hermosa JM. Rosacea-like demodicidosis in an immunocompromised child. *Pediatr Dermatol* 2003;20:28-30.
47. Duvic M. Staphylococcal infections and pruritus of AIDS-related complex. *Arch Dermatol* 1987;123:1599.
48. Ashack RJ, Frost ML, Norins AL. Papular pruritic eruption of *Demodex* folliculitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:306-7.
49. Dominey A, Rosen T, Tschen J. Papulonodular demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:197-201.
50. Banuls J, Ramon D, Aniz E, Jorda E, Torres V. Papular pruritic eruption with human immunodeficiency virus infection. *Int J Dermatol* 1991;30:801-3.
51. Girault C, Borsa-Lebas F, Lecomte F, Humbert G. Eruption papulo-nodulaire. Démodécie au cours du syndrome d'immunodéficience acquise. *Presse Med* 1991;20:177.
52. de Jaureguiberry JP, Carsuzaa F, Pierre C, Arnoux D, Jaubert D. Folliculite à *Demodex*: une cause de prurit au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Ann Med Interne (Paris)* 1993;144:63-4.
53. Redondo-Mateo J, Soto-Guzman O, Fernandez-Rubio E, Dominguez-Franjo F. *Demodex*-attributed rosacea-like lesions in AIDS. *Acta Derm Venereol* 1993;73:437.
54. Nakagawa T, Sasaki M, Fujita K, Nishimoto M, Takaiwa T. *Demodex* folliculitis on the trunk of a patient with mycosis fungoides. *Clin Exp Dermatol* 1996;21:148-50.
55. Sarro RA, Hong JJ, Elgart ML. An unusual demodicidosis manifestation in a patient with AIDS. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:120-1.
56. Jansen T, Kastner U, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea-like demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Br J Dermatol* 2001;144:139-42.
57. Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-responsive *Demodex* infestation during human immunodeficiency virus infection. *Dermatology* 2002;205:394-7.
58. Marks R, Dawber RPR. Skin Surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971;84:117-23.
59. Desch CE, Nutting WB. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977;19:422-62.
60. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society expert committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:584-7.
61. Blackmar FB. Pigmentation of roots of cilia caused by acarus *Demodex folliculorum*. *Am J Ophthalmol* 1929;12:373-5.
62. StatSoft France (2003). STATISTICA (data computing software), version 6. www.statsoft.com.

63. Won JH, Ahn SK, Lee SH. Unusual manifestation of demodicidosis in a child. *Int J Dermatol* 1993;32:822.
64. Pietrini P, Favennec L, Brasseur P. *Demodex folliculorum* in parakeratosis of the scalp in a child. *Parasite J Soc Franc Parast* 1995;2:94.
65. Patrizi A, Neri I, Chieragato C, Misciali M. Demodicidosis in immunocompetent young children: report of eight cases. *Dermatology* 1997;195:239-42.
66. Morsy TA, Fayad M, Morsy ATA, Afify EMS. *Demodex folliculorum* causing pathological lesions in immunocompetent children. *J Egypt Soc Parasitol* 2000;30:851-4.
67. Grobmann B, Jung K, Linse R. Tuberös-pustulöse demodikose. *Hautarzt* 1999;50:491-4.
68. Akilov OE, Svetlana V, Kazanceva V, Vlasova IA. Particular features of immune response after invasion of different species of human *Demodex* mites. *Russian J Immunol* 2001; 6:400-4.
69. Epidemiological Service, Scientific Institute of Public Health. Health Interview Survey, Belgium (2001): Available from: <http://www.iph.fgov.be/sasweb/his/fr/fig9701.htm>. Accessed April 15, 2004.
70. Capet F, Debaillie R, Tafforeau J, Van Oyen H. Institute of Public Health. Episerie n°19: Diabète: état des connaissances en Belgique et apport d'éléments pour l'élaboration d'une politique de santé. Available from: <http://www.iph.fgov.be/epidemio/morbidat/fr/zie/ZIEK04r.pdf>. Accessed April 15, 2004.
71. Ruffi T, Büchner SA. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of *Demodex folliculorum*. *Dermatologica* 1984;169:1-5.
72. Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, Koumantaki-Mathiodaki E, Georgala C. Increased density of *Demodex folliculorum* and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15:441-4.
73. Benmao S, Senet P, Chosidow O. Manifestations cutanéomucqueuses du diabète. In: *Encycl Méd chir (Editions scientifiques et médicales Elsevier, SAS, Paris, tous droits réservés), Dermatologie, 98-866-A-10, 2002, 6p.*
74. Akilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicidosis and HLA class I. *Exp Dermatol* 2003;28:70-3.
75. Akilov OE, Smirnova NS. Epidemiology of human demodicosis. In: Vissarionov VA, editor. *An actual problem in plastic surgery, aesthetic surgery and cosmetology*. Moscow: Triada Pharm Publications; 2001. p. 65-74.
76. Millikan L. Androgenetic alopecia: the role of inflammation and *Demodex*. *Int J Dermatol* 2001;40:475-6.
77. Hellerich U, Metzelder M. Incidence of scalp involvement by *Demodex folliculorum* Simon ectoparasites in a pathologic-anatomic and forensic medicine autopsy sample. *Arch Kriminol* 1994;194:111-8.
78. Crosti C, Menni S, Sala F, Piccino R. Demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. *J Cutan Pathol* 1983;10:257-61.
79. Katz AM. Rosacea: epidemiology and pathogenesis. *J Cutan Med Surg* 1998;2:5-10.
80. Feldman SR, Hollar CB, Gupta AK, Fleischer AB. Women commonly seek care for rosacea: dermatologists frequently provide the care. *Cutis* 2001;68:156-60.
81. Sobyte P. Aetiology and pathogenesis of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1950;30:137-58.
82. Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1989;69:419-23.
83. Marguery MC. Photoprotection (interne et externe). In: *Encycl Méd chir (Editions scientifiques et médicales Elsevier, SAS, Paris, tous droits réservés), Dermatologie, 98-944-A-10, 2001, 11p.*
84. Gessert CE, Bamford JT. Measuring the severity of rosacea: a review. *Int J Dermatol* 2003;42:444-8.
85. Roitt IM. Hypersensibilité de type IV. In: Roitt, Brostoff, Male, editors. *Immunologie*. Traduit de l'anglais par Revillard JP et Fridman WH. De Boeck Université Ed, 4^e Ed; 1997. p. 329-40.
86. Lozato PA, Pisella PJ, Baudouin C. Phase lipidique du film lacrymal: physiologie et pathologie. *J Fr Ophtalmol* 2001;24: 643-58.
87. English FP, Nutting WB. Demodicosis of ophtalmic concern. *Am J Ophthalmol* 1981;91:362-72.
88. Tanzi EL, Weinberg JM. The ocular manifestations of rosacea. *Cutis* 2001;68:112-4.
89. Akpek EK, Merchant A, Pinar V, Foster S. Ocular rosacea: patients characteristics and follow-up. *Ophthalmology* 1997; 104:1863-7.

APPENDIX

Patients were recruited from the following locations. Initials indicate which coauthor examined patients in each institution; see the author list for more information.

Rue Franz Binjé 8, 1030 Brussels (F. F.); Polyclinique Oasis, Square Hoedemaekers 15, 1140 Brussels (F. F.); Avenue Brugmann 24, 1180 Brussels (M.-A. G.); Neerleest 24, 1020 Brussels (M.-A. G.); Erasme University Hospital, Université Libre de Bruxelles, Dermatological Department, Route de Lennik 808, 1070 Brussels (M.-A. G.; M. L.; M. T.); Institut Medical Edith Cavell, 32 Rue Edith Cavell, 1180 Brussels (M.-A. G.); Centre Médical, Place Sainte Anne 13, 1420 Braine l'Alleud (T. B.); Centre Médical, Chaussée Houtart 157, 7110 Houdeng-Goegnies (T. B.); Rue Gatti de Gamond 32/19, 1180 Brussels (A. d. L.); Centre Hospitalier Molière Longchamp, Rue Marconi 142, 1190 Brussels (A. d. L.); Centre Hospitalier Bracops, Rue Huet 79, 1070 Brussels (A. d. L.); Boulevard Martin 16, 1340 Ottignies (M. L.); Avenue de Mai 266, 1200 Brussels (C. M.); Chemin Geevaert 32, 1640 Rhode Saint Genèse (U. S.); Rue de la Vallée 10, 1050 Brussels (J.-J. S.); Rue Defacqz 129, 1060 Brussels (S. T.); Hôpitaux Iris Sud site Etterbeek, Square Jean Joli 2, 1040 Brussels (S. T.); Avenue Winston Churchill 125, 1180 Brussels (M. T.); Centre Médical Waterloo, Rue du Gaz 1, 1410 Waterloo (M. T.); and Hôpitaux Iris Sud site Ixelles, Rue Jean Paquot 63, 1050 Brussels (M. T.).

Notre étude a pu confirmer que, à Bruxelles (et environs), les démodécies étaient très fréquemment rencontrées dans la consultation de dermatologie générale (aussi fréquemment que la dermatite atopique), qu'elles survenaient chez des patients apparemment immunocompétents, que le pityriasis folliculorum était plus fréquent que la RPP et avait une densité moyenne en Demodex plus élevée que la RPP (61 versus 36D/cm² (p=0.04)) et que les RPPs avec densités en Demodex normales étaient exceptionnelles (6/48).

Une remarque cependant s'impose : dans cette étude, nous avons classé les RPPs parmi les démodécies, conformément à nos convictions, et, de façon assez surprenante avec le recul, cela a été accepté par les reviewers du JAAD à l'époque, alors que ce n'était pas du tout accepté par l'opinion internationale, puisqu'aujourd'hui encore, le rôle du Demodex dans la rosacée est encore discuté. Ainsi, **aujourd'hui, nous présenterions les résultats autrement**, pour respecter l'opinion internationale : « dans notre étude, la RPP est une dermatose fréquente (ce qui était déjà connu) et les démodécies sont encore plus fréquentes (ce qui n'était pas connu). Si **nous regroupons ces deux dermatoses** (RPP et démodécies) en considérant la RPP comme une démodécie, **la somme de leurs prévalences est identique à celle de la dermatite atopique** (qui est une dermatose couramment rencontrée en dermatologie) ».

A l'occasion de cette étude, nous avons introduit la description d'un nouveau tableau clinique de démodécie, qui pourrait être considéré comme une variante eczématiforme/irritative : les « **eczématides folliculaires** » (§ 1.3.1.8.).

3.7. 2005 : Dermatite périorale & Demodex⁵⁵³

Lettre à l'Editeur

Dolenc-Voljc *et al*, utilisant la SSSB, observent que les patients avec dermatite périorale ont une densité en Demodex plus élevée que les contrôles, ceci étant dû uniquement au sous-groupe de patients atteints de dermatite périorale traités par corticostéroïdes locaux, suggérant que les corticoïdes locaux favorisent la prolifération en Demodex, mais pas la dermatite périorale elle-même.²³⁴ Ils ne spécifient pas la nature de la dermatose initiale pour laquelle les patients ont reçu leur corticothérapie et n'utilisent qu'une seule SSSB sans dégraissage à l'éther. Nous avons émis des réserves quant à l'interprétation des résultats.

Acta Derm Venereol 2005; 85: 193

In this issue...

Does *Demodex folliculorum* play a role in perioral dermatitis?

Demodex (D) folliculorum, although present in normal skin, is usually considered playing a pathogenic role when it multiplies and when it penetrates the dermis. With the Standardized Skin Surface Biopsy (SSSB), the density of the mite is $\leq 5D/cm^2$ in normal skin, when it is from 8 to $36 D/cm^2$ in papulopustular rosacea.¹⁻³

It would indeed be very interesting to know the *D folliculorum* density (Dd) in each kind of facial dermatosis; towards this perspective, the study of Dr Dolenc-Voljc *et al* (p. 211) opens up the way to future investigations: they chose the SSSB to investigate the Dd in perioral dermatitis (PD). The value of Dd of their control group is the same as in previous studies ($0.7D/cm^2$, $<5D/cm^2$), which confirms that SSSB enables comparisons to be made by different investigators. Today, SSSB appears to be the most appropriate method to measure Dd: it is non-invasive, accurate, reproducible, and enables analysis of an important part of the *D. folliculorum* biotope (the sample is large ($1 cm^2$) and deep (infundibula)). Dr Dolenc-Voljc *et al* observed a higher Dd in PD only when the patients were treated with topical steroids: PD seems therefore not related to *D. folliculorum* proliferation. Moreover, topical steroids seem to induce a local immunosuppression which could favour a secondary Demodex proliferation, which was already suggested by other studies.

Nevertheless, it could be hypothesized that topical steroids could improve the quality of the sample, and reduce the number of false negative results, by, for example, reducing the layer of horny scraps and increasing the adherence of the lamina to the skin; in this case, the observed difference between treated and non-treated patients could be explained by a bias in the method rather than by a real difference of Dd between the groups. So, before to give a definite conclusion on the role of *D. folliculorum* in PD, it would be interesting to exclude this hypothesis, by taking all possible measures to avoid the false negative results:

- to perform a second SSSB at the same place when the first one was negative,
- to clean initially the slide and the patient's skin with ether before performing the SSSB, to improve and to standardize the adherence.

1. Bonnar E, et al. The Demodex mite population in rosacea. J Am Acad Dermatol 1993; 28: 443-8.
2. Forton F, et al. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. Br J Dermatol 1993; 128: 650-9.
3. Forton F, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. J Am Acad Dermatol 2005 Jan; 52: 74-87.

Fabienne Forton, MD Rue Franz Binjé, 8 B-1030 Bruxelles, Belgium

2005 Taylor & Francis. ISSN 0001-5555

Acta Derm Venereol DOI: 10.1080/00015550510037783

3.8. 2006 : SSSB & prévalence⁵⁰

Lettre à l'Editeur

Les années autour de l'an 2000 voient fleurir des publications qui utilisent la SSSB pour mesurer la prévalence du parasite, avec des résultats relativement faibles. Or, il était démontré depuis longtemps que le parasite se retrouve chez tous les individus pour autant que la méthode d'investigation soit suffisamment perspicace/sensible (§ 1.1.3).

Nous avons donc dû **préciser que, vu sa sensibilité relativement faible, la SSSB n'était pas une méthode adaptée pour mesurer la prévalence**, mais uniquement pour évaluer la densité du parasite. Bien sûr, les prévalences obtenues par ces études reflètent la densité des parasites : une prévalence élevée dans un groupe reflète une Dd plus élevée, mais une prévalence nulle ne signifie pas que les patients de ce groupe n'ont pas de Demodex, cela signifie uniquement que la densité en Demodex y est probablement faible (§ 1.1.3.).

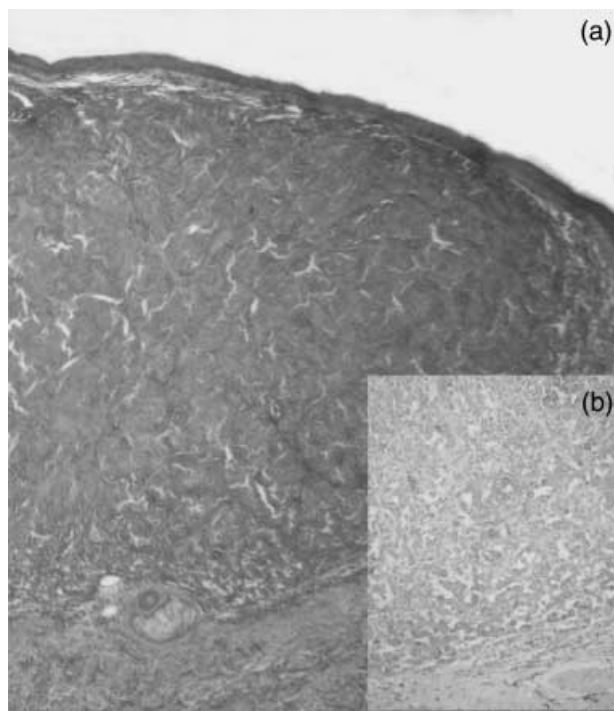


fig. 2 (a) Scanning magnification of the neoplasia characterized by a well-circumscribed nodule, separated from the overlying epidermis (haematoxylin-eosin). (b) Melanoma cells are c-Kit positive (c-Kit stain; DAKO, Glostrup, Denmark).

the c-Kit axis.⁵ There are few articles about the onset of melanocytic neoplasia in oncohaematological patients. In particular, widespread eruptive dermal and atypical melanocytic naevi in a patient affected by CML has been described.⁶ In the article, none of the atypical naevi are clearly described as melanoma.⁶ In conclusion, we report the rare case of a primary dermal melanoma occurred in contiguity with an intradermal naevus, in a patient affected by CML, Ph+, and associated with a prolonged survival.

C Vassallo,*† F Muzio,† V Brazzelli,† O Ester,‡
M Lazzarino,‡ G Borroni†
†Department of Dermatology and ‡Institute of Haematology,
S. Matteo Hospital, Pavia, PV, Italy, *Corresponding author,
tel. +39 0382 503813; fax +39 0382 526379;
E-mail: cvassallo@yahoo.com; vassallo@smatteo.pv.it

References

- 1 Bowen GM, Chang AE, Lowe L, Hamilton T, Patel R, Johnson TM. Solitary melanoma confined to the dermal and/or subcutaneous tissue: evidence for revisiting the staging classification. *Arch Dermatol* 2000; **136**: 1397–1399.
- 2 Swetter SM, Ecker PM, Johnson DL, Harvell JD. Primary dermal melanoma: a distinct subtype of melanoma. *Arch Dermatol* 2004; **140**: 99–103.
- 3 Tajima Y, Nakajima T, Sugano I, Nagao K, Kondo Y. Malignant melanoma within an intradermal nevus. *Am J Dermatopathol* 1994; **16**: 301–306.
- 4 Guerriere-Kovach PM, Hunt EL, Patterson JW, Glembocki DJ, English JC 3rd, Wick MR. Primary melanoma of the skin and cutaneous melanomatous metastases: comparative histologic features and immunophenotypes. *Am J Clin Pathol* 2004; **122**: 70–77.
- 5 Lefevre G, Glotin AL, Calipel A *et al.* Roles of stem cell factor/c-Kit and effects of Glivec/STI571 in human uveal melanoma cell tumorigenesis. *J Biol Chem* 2004; **279**: 31769–31779.
- 6 Richert S, Bloom EJ, Flynn K, Seraly MP. Widespread eruptive dermal and atypical melanocytic nevi in association with chronic myelocytic leukemia: case report and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 1996; **35**: 326–329.

DOI: 10.1111/j.1468-3083.2007.02206.x

Standardized skin surface biopsy: method to estimate the *Demodex folliculorum* density, not to study the *Demodex folliculorum* prevalence

Editor

In a recent letter in the *JEADV*, Okyay *et al.* study the prevalence of *Demodex* in young adults using the standardized skin surface biopsy (SSSB).¹

The skin surface biopsy was described by Marks and Dawber in 1971.² Twenty-two years later, two concurrent publications use this technique on a specified surface: this of Bonnar³ and ours,⁴ in which we give both the concept (to standardize the surface of 1 cm² to measure a density), the normal value (< 5 D/cm²) and the name of the technique, the SSSB.⁴ However, for an unknown reason, Okyay *et al.* decided not to refer to our work.

At the present time, the SSSB is really the most adapted technique for measuring the mite density in the skin but, we think, not for studying its prevalence.^{4,5}

The real prevalence of the mite is probably 100%, based on evidence from the most fastidious studies (16 standard biopsies by patient, on corpses, for example, see Table 1 of our paper published in 1993).⁴ We observed only 15 *Demodex* carriers by 45 controls (33.3%), which is similar to the prevalence found by Okyay (38.6%). This was probably because the SSSB collects only a limited skin sample (both in surface and in depth). Thus, SSSB reveals the few mites present on skin surface and the more

Relevant corporate affiliations: Société Royale Belge de Dermatologie et Vénérologie (SRBDV); European Academy of Dermatology and Venereology (EADV).

numerous ones in the superficial part of the pilosebaceous duct, on a surface of 1 cm²: this number does certainly not represent all the mites present in the patient's skin and so the 38.6% found by Okyay does not represent the real prevalence of the *Demodex* carriers.

Moreover, we know that false negative (FN) can occur using a single SSSB: it can happen that a SSSB takes no mite even if their density is extremely high (> 1056 D/cm²).⁵ This FN result at the first SSSB is probably due to a bad adherence of the mites to the lamina, as they are protected from contact with the glue by a layer of horny scraps or by a layer of sebum.

To avoid these FN, before performing a SSSB, we clean the skin and the slide with ether (to improve adherence and to standardize the variable intensities of seborrhoea),⁶ or/and we perform two successive SSSB at the same place. Okyay *et al.* perform only one SSSB at each site, and they apparently do not clean the skin with ether before performing the SSSB.

Okyay *et al.* observe a normal (< 5 D/cm²)⁴ and similar *Demodex* density in the group with acne (0.67 D/cm²) and in the group without acne (0.19 D/cm²; *P* = 0.101).¹ For those reasons, they might legitimately conclude that the presence of *Demodex folliculorum* does not seem to be related to acne vulgaris.

F Forton*

Rue Franz Binjé, 8, B-1030 Brussels, Belgium,

*Corresponding author, Rue Franz Binjé, 8, B-1030 Brussels, Belgium, tel. +32 2 216 38 73; fax +32 2 241 38 83;

E-mail: fabienne.forton@skynet.be

References

- 1 Okyay P, Ertabaklar H, Savk E, Ertug S. Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: relation with sociodemographic/hygienic factors and acne vulgaris. *J Eur Acad Derm Venereol* 2006; **20**: 474–476.
- 2 Marks R, Dawber R. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; **84**: 117–123.
- 3 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- 4 Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control-study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 5 Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**: 697–700.
- 6 Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.

DOI: 10.1111/j.1468-3083.2007.02455.x

Response to Forton

Editor

We have already read the letter of Dr Forton on our manuscript named 'Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: relation with socio-demographic/hygienic factors and acne vulgaris', published in *JEADV*. Here are the answers on the items that have been issued by Dr Forton.

We asked *JEADV* to publish our manuscript as an Original Article. However, the editorial board decided to publish in the 'Letter to the Editor' category and asked us to reform the manuscript according to the rules of the journal. We changed the format and decreased the number of the references as the maximum number of excepted references was 10 for the letter category. In the original format, we had 25 references, of which the fifth one belonged to Forton *et al.*¹ Although we have really appreciated the researcher's work, we were obliged to make a choice and preferred to refer the current reference on the technique after decreasing the references.

On the other hand, the sixth reference² in the Dr Forton's letter is a new one. We know that we did not reach the reference while writing the manuscript. It is really impossible to skip such an important paper. We think that the paper has been published after we sent our paper to the journal/during publishing process.

Finally, Dr Forton says that the SSSB technique is not suitable for studying for prevalence. There are many prevalence studies in the literature with SSSB, and we think that the prevalence is declared with the name of the technique, so the readers could be aware of limitations, on which the discussion is continuing.

P Okyay,*† H Ertabaklar,‡ E Şavk,§ S Ertug‡

†Department of Public Health, ‡Department of Parasitology, and §Department of Dermatology, School of Medicine, Adnan

Menderes University, Aydın, Turkey, *Corresponding author,

Department of Public Health, School of Medicine, Adnan

Menderes University, Aydın, Turkey,

E-mail: pinarokyay@adu.edu.tr

References

- 1 Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardised skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 2 Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.

DOI: 10.1111/j.1468-3083.2007.02456.x

3.9. 2012 : Pityriasis folliculorum, chainon manquant²⁰⁵

Cet article avait pour but de faire connaître tous les arguments qui montrent que la prolifération en Demodex est à l'origine de la rosacée et de contrer des idées fausses qui avaient beaucoup de succès à l'époque dans la littérature :

A. Il était régulièrement écrit que le Demodex se nourrissait uniquement ou principalement de **sébum**,⁷³ ce qui est une erreur importante (§ 1.1.4.2. C.). Cette erreur vient probablement du fait que les articles écrits par les acarologues ne sont pas souvent lus par les dermatologues. De plus, notre première publication, montrant l'action destructrice du parasite sur l'épiderme folliculaire, publiée en français, était tombée dans l'oubli. Nous avons donc décidé de remettre en lumière ces observations passées et avons publié une revue extensive des connaissances sur le sujet dans un journal anglophone, en y joignant les principales photos histologiques publiées en 1986, qui montrent les brèches provoquées par le parasite dans l'épithélium, suite à son « broutage », de même que le trajet transversal du parasite au travers de la paroi folliculaire (§ 3.1.). Nous y avons joint un schéma anatomique du parasite, afin de bien montrer aux dermatologues que ce parasite était construit pour percer, gratter et engloutir le contenu de nos cellules, tout en sécrétant en plus des enzymes digestives (§ 1.1.4.2. C.).

B. Par ailleurs, **une étude de biologie moléculaire publiée dans « Nature »** en 2007, avait eu un succès retentissant : les auteurs prétendaient in fine que la rosacée était due à un dérèglement primaire de l'immunité innée, dans un environnement par ailleurs normal. Nous avons détaillé cette étude dans le § 1.4.8.2. A. **Or, nous savons depuis 1993 que l'environnement de la rosacée n'est pas normal** : les auteurs ignoraient-ils que les Demodex sont présents en densité anormalement élevée dans la RPP ? et que cette haute densité est retrouvée facilement chez presque tous les patients ? cela ne semble pourtant pas être le cas, car, si ils mentionnent le Demodex parmi les facteurs susceptibles de déclencher la réaction,³⁹⁸ ils considèrent que sa prolifération est un « facteur extrinsèque qui n'est ni suffisant ni spécifique à la maladie », tandis que le facteur intrinsèque qui définit la réponse à ce facteur extrinsèque serait la clé de la pathogénèse de la maladie.⁴⁰¹

Il était également déjà connu à ce moment-là que les facteurs qui stimulent les TLR2 étaient les infections et les traumatismes. Or, quand le Demodex prolifère anormalement et se nourrit des cellules épithéliales, il correspond exactement à la définition de ce qui stimule habituellement les TLR2 : l'infection et le traumatisme. Il apparaît donc comme un **candidat⁴¹⁰ idéal dans l'initiation de cette cascade**

inflammatoire (Fig. 75).⁵⁵⁴ Autrement dit, la description de cette réaction, loin de prouver l'origine immunitaire de la RPP, soutient au contraire le rôle du Demodex dans la rosacée.

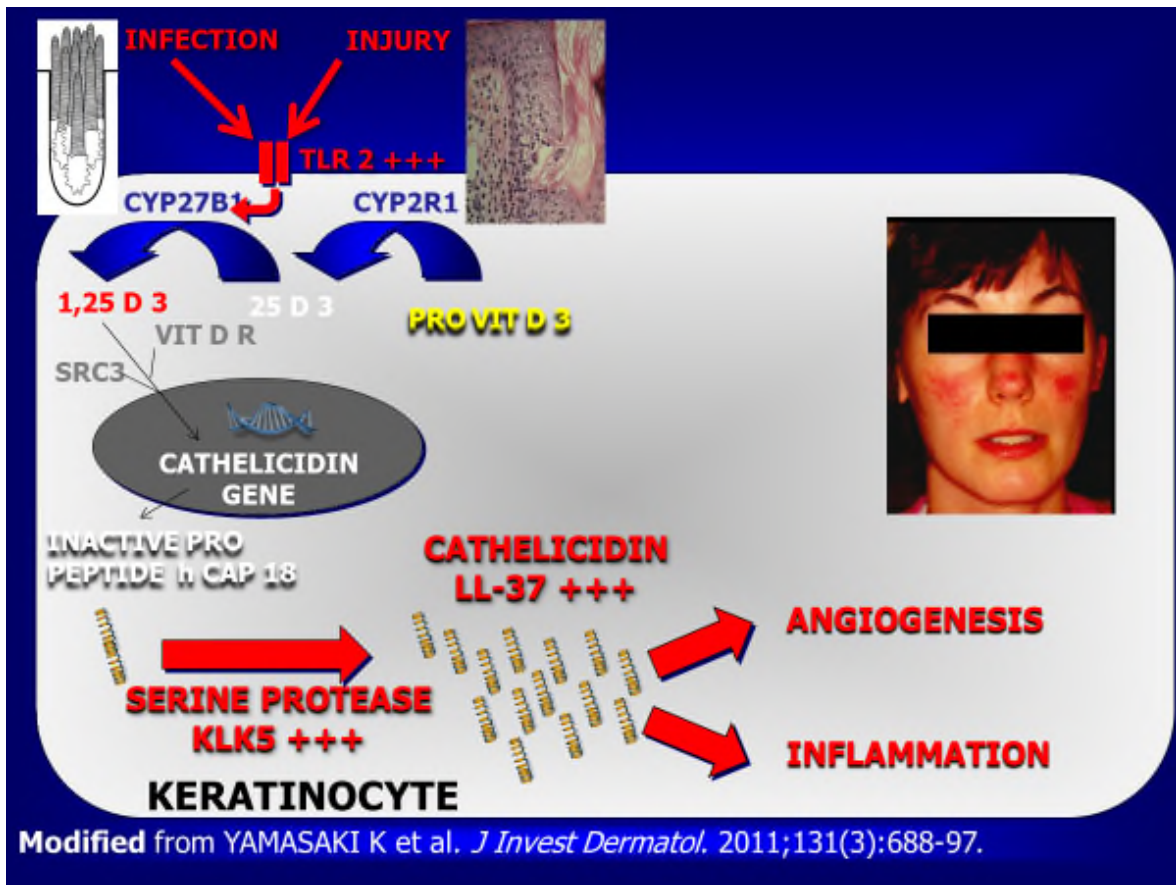


Fig. 75. Représentation schématique illustrant **notre interprétation** des travaux de Yamasaki :^{399,401} le Demodex apparaît comme le candidat idéal dans l'initiation de la cascade inflammatoire décrite.

Il fallait donc essayer de défendre notre point de vue : cette réaction immunitaire, si détaillée qu'elle fût, n'est vraisemblablement qu'une **réaction** à la prolifération des parasites. Elle n'est que la description d'une partie du processus immunitaire, mais n'en est vraisemblablement pas la cause.

REVIEW ARTICLE

Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link

F.M.N. Forton*

Dermatologist, Private practice, rue Franz Binjé, Brussels, 8-1030 Belgium

*Correspondence: F.M.N. Forton. E mail: fabienne.forton@skynet.be

Abstract

Papulopustular rosacea (PPR) is a common facial skin disease, characterized by erythema, telangiectasia, papules and pustules. Its physiopathology is still being discussed, but recently several molecular features of its inflammatory process have been identified: an overproduction of Toll-Like receptors 2, of a serine protease, and of abnormal forms of cathelicidin.

The two factors which stimulate the Toll-like receptors to induce cathelicidin expression are skin infection and cutaneous barrier disruption: these two conditions are, at least theoretically, fulfilled by Demodex, which is present in high density in PPR and creates epithelial breaches by eating cells. So, the major pathogenic mechanisms of Demodex and its role in PPR are reviewed here in the context of these recent discoveries.

In this review, the inflammatory process of PPR appears to be a consequence of the proliferation of Demodex, and strongly supports the hypothesis that: (1) in the first stage a specific (innate or acquired) immune defect against Demodex allows the proliferation of the mite; (2) in the second stage, probably when some mites penetrate into the dermis, the immune system is suddenly stimulated and gives rise to an exaggerated immune response against the Demodex, resulting in the papules and the pustules of the rosacea.

In this context, it would be very interesting to study the immune molecular features of this first stage, named "pityriasis folliculorum", where the Demodex proliferate profusely with no, or a low immune reaction from the host: this entity appears to be a missing link in the understanding of rosacea.

Received: 6 April 2011; Accepted: 27 September 2011

Conflicts of interest

None.

Funding sources

None.

Contents of the manuscript have not been previously published and are not currently submitted elsewhere.

Introduction

Papulopustular rosacea (PPR) is a common facial skin disease, characterized by vascular (flushes, erythema and telangiectasia) and inflammatory (papules and pustules) symptoms. Its physiopathology is multifactorial and is still being discussed.

Several molecular features of its inflammatory process have been recently identified: in 2007, Yamasaki *et al.*¹ observed that individuals with rosacea show an increase in both serine protease kallikrein (KLK5) and abnormal forms of cathelicidin in the facial skin. Moreover, they showed that two of these cathelicidin peptides (LL-37 and FA-29) induce erythema and vascular dilation when injected in the skin of a mouse.¹ LL-37 has a lower antimicrobial power than the smaller cathelicidin found in healthy skin,² and, especially, it promotes more angiogenesis and inflam-

mation, leading to the clinical findings of rosacea.¹ In 2011, Yamasaki *et al.*³ showed that Toll-like receptors (TLR) 2 expression is also increased in rosacea, and that it stimulates enhanced KLK5 production in a calcium-dependent manner. They suggest that the origin of PPR is a disorder of the immune system: for them, the initial increase of TLR2 explains why rosacea patients might overreact, although bacterial diversity and quantities are similar between rosacea and normal skin.³

As already suggested by Bevin and Liu⁴ concerning LL-37 and KLK5 in 2007, this hypothesis does not explain the initial increase in TLR2 and, in particular, whether this occurs as a response to specific triggers. Although the bacteria are quite similar in rosacea to normal skin, this is not the case with the Demodex (D) population. However, the two factors that stimulate the TLR to induce cathelicidin expression are skin infection and cutaneous barrier

disruption:⁵ these two conditions are, at least theoretically, fulfilled by D, when it proliferates and eats epithelial cells. Moreover, the increase in TLR2 could be explained by a secondary positive feedback, as the vitamin D-dependent amplification mechanism, described by Schaubert *et al.*⁵

Since 1925,⁶ the role of D in PPR has given rise to debate: at present, D is usually considered as playing a pathogenic role when it multiplies^{7–25} and when it penetrates into the dermis.^{26–34} However, many dermatologists do not agree with this concept when the clinical condition is the PPR.

For several reasons, it is impossible to establish the pathogenicity of D using the Koch postulates: (i) it parasitizes the healthy skin; (ii) its pathogenicity depends on the immunological ground of the patient; (iii) as it is an obligate parasite, it cannot be grown *in vitro* and so a massive experimental infestation can therefore not be performed.³⁵ However, not all accepted pathogens fulfil these postulates;³⁶ so, in this article, we shall review the literature to see if we can establish the pathogenic role of D in PPR, without fulfilling the Koch postulates.

Demodex and its major pathogenic mechanisms

Demodex

Demodex is a spindle-shaped transparent mite (Fig. 1b) which lives exclusively in the pilosebaceous follicles of mammals.³⁷ Its role remains unclear: in particular, we do not know whether it confers some benefit to the host, or not.³⁸ Each species of D is specific to its host species.³⁵ In the human skin, two species of D are observed: *D. folliculorum*, a long form which lives in the pilose-

baceous duct, and *D. brevis*, a short form which inhabits the sebaceous and Meibomian glands. Over their life-cycle of ± 15 days, male and female change from ovum to larva, to protonymph, to deutonymph and then into adult form,³⁹ varying in length between 0.06 and 0.4 mm.³⁷ Copulation occurs in the mouth of the follicle.³⁹ *D. folliculorum* is observed in normal skin with a prevalence of 100%^{7,8} and a density of ≤ 5 D/cm² in the adult population.⁷

As a result of its deep location, *D. brevis* is not easily detectable by a non-bleeding sampling method, and is therefore less well known than *D. folliculorum*. This is the reason why, in this review, we principally consider *D. folliculorum* even if *D. brevis* probably plays a similar pathogenic role in PPR.

Demodex causes a cutaneous barrier disruption

The mite, moving with four pairs of legs, each of them bearing two claws,⁴⁰ is responsible for the erosion of the epithelium.⁴¹ In eating the human cells,⁴⁰ D is responsible for even more important cutaneous breaches³⁰ (Fig. 2a). Even, when eating cells transversally,³⁰ it can penetrate into the dermis^{24,26,28,30} (Fig. 2b): as the cutaneous barrier becomes disrupted, the TLR are, as a rule, stimulated⁵ and the D antigens are exposed to the human immune system. Further studies are needed to confirm that D really does stimulate TLR.

So, D is responsible for a permanent micro abrasion of the skin, which is likely to be the origin of the hypersensitivity encountered in rosacea. This observation is corroborated by our clinical experience: the complaint of sensitive skin disappears concomitantly with the normalization of the D density (Dd).



Figure 1 (a) The Standardized Skin Surface Biopsy^{7,64,65} is a non invasive sampling method by which it is possible to collect 1 cm² of the superficial part of the horny layer and of the follicle content. It consists of placing a drop of cyanoacrylic adhesive (Loctite[®]) on a microscope slide, applying the adhesive bearing surface of the slide to the skin, and removing it gently after it has been allowed to dry (about 1–3 min). Initially, a standard surface area of 1 cm² is drawn on the slide with a red waterproof pen, traced by transparency after putting down the lamina on a sheet of standard square paper. The area of 1 cm² is also divided into four equal squares to make the further counting of parasites easier. After removal from the skin, each sample is clarified with 2–3 drops of immersion oil, and then covered with a cover slip. The samples are studied microscopically at standard magnifications ($\times 40$, $\times 100$). (b, c) Direct microscopic examination during the consultation: (b) *Demodex folliculorum* (± 12 adults, 2 larvae, 3 eggs) free and inside the follicle ($\times 100$). (c) Five follicles with 3–9 *Demodex folliculorum* per follicle ($\times 40$).

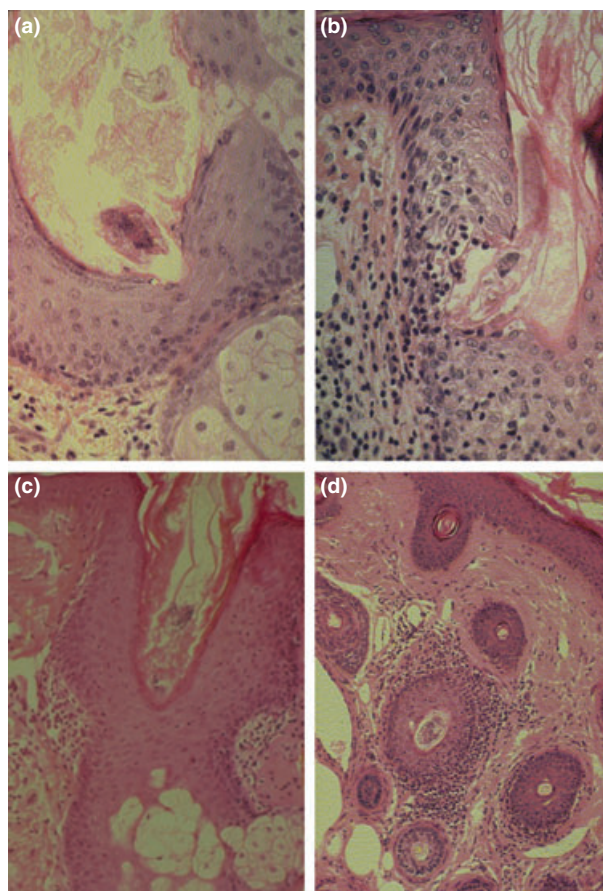


Figure 2 Cutaneous biopsies (hemalun-eosine-saffron). (a) Demodex is cut slantways in a pilosebaceous duct. Just in front of the mite, the granular layer of the duct is interrupted because the D is eating the human cells ($\times 475$). (b) Demodex folliculorum is cut longitudinally in the follicular duct. Eating the human cells transversally, it penetrates more deeply through the epithelium. So, we can see its trajectory: the mite is actively passing through the follicular wall, to penetrate into the dermis ($\times 475$). (c) Demodex folliculorum is cut longitudinally in the follicular duct. The perifollicular infiltrate is often localized at the level of the gnathosome of the mite, with which it causes the most significant epithelial breach ($\times 200$). (d) Follicles are cut transversally: the follicle which is the most attacked by a lymphocytic infiltrate contains a Demodex. This is not a coincidence, it illustrates the reality: the lymphocytic infiltrate is actually statistically related to the presence of Demodex inside the follicle^{30,46} ($\times 475$). Figures 2a, 2b, and 2c are reprinted from "Forton F. Demodex et inflammation périfolliculaire chez l'homme : revue et observation de 69 biopsies. Ann Dermatol Vénérologie 1986; 113: 1047-58.3" 30, with the authorisation of Elsevier Masson S.A.S., Paris.

Preoral digestion:⁴⁰ release of enzymes (protease?)

To eat, D projects two stylets from the preoral opening to puncture the host cells^{35,40} (Fig. 3): *D. folliculorum* has special piercing mouthparts, while *D. brevis* has a simpler structure.⁴² It scrapes the

internal surface of the host cells with two palps,⁴⁰ and secretes enzymes from two salivary glands for a preoral digestion: the liquefied cytoplasm is then ingested into the food canal by the action of the pharyngeal pump.⁴⁰ It may be supposed that there are proteases amongst its salivary enzymes. This hypothesis is supported by the observation, in cutaneous biopsies, of two anti-proteases on the cuticle of *D. folliculorum* and *D. brevis*, as if they were a protective response by the human host against the mite infestation.⁴³ Indeed, in atopic dermatitis, two proteases derived from house dust mites are identified as causing skin irritation or immune activation.⁴⁴ The D proteases might interfere with the endogenous protease/protease-inhibitor balance and lead to exacerbations of PPR, probably like the house dust mite proteases do in atopic dermatitis.⁴⁵

Demodex induces a type IV immunological reaction

In cutaneous biopsies, the presence of D inside the follicles is statistically correlated with a lymphocytic infiltrate around these follicles^{30,46} (Fig. 2c,d). When D passes through the follicular wall and penetrates into the dermis, a granulomatous reaction occurs and giant cells phagocytize the mite, which is observed in the granulomatous rosacea.^{24,26,28,29,47} It is interesting to note here that the granuloma are observed in biopsies not only in clinical granulomatous rosacea, but also in PPR,^{32,47} and even in erythematotelangiectatic rosacea.⁴⁷

Authors, in general, still consider that D passes into the dermis passively, after the destruction of an infested follicle by the inflammation.^{26,47,48} However, the reason why the inflammatory process destroys the follicle is precisely the presence of numerous D inside the follicle.^{26,47} The penetration of the mite into the dermis does not occur at random: D penetrates the dermis actively (Fig. 2b) or passively, thanks to the inflammation that it itself induces.

On the other hand, it has been demonstrated that the lymphocytes of the infiltrate around the infested follicles of PPR and those of D granulomas are both T helper cells.^{49,50} Probably, they are T helper-17 cells, known to produce interleukin-17 and to activate the TLR.⁵¹

Moreover, some isolated cases of D proliferation are also reported amongst patients with cellular immunodeficiency of various origins. However, the most interesting fact is that, in several patients, the papules and pustules appear when immunity begins to be restored by the treatment.⁵²

All these studies suggest a type IV immunological reaction.^{30,49,50}

For some authors, the perivascular location of the infiltrate (also observed in PPR)⁴⁷ suggests that rosacea is not a follicular but a vascular process. However, in addition to the perifollicular infiltrate around the infested follicles, the perivascular location of the infiltrate can be explained very well by the first stage of a type IV immunological reaction against D: T helper lymphocytes and macrophages are attracted by antigens and appear around the vessels of the infected site.

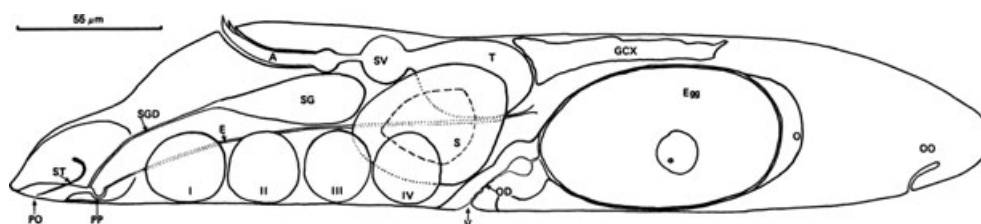


Figure 3 Diagrammatic representation of the anatomy of *Demodex* spp. showing: A = penis, E = oesophagus, egg, OD = oviduct, GCX = gut cells with crystals, O = ovary, OO = opisthosomal organ (function unknown), PO = preoral opening, PP = pharyngeal pump, S = brain, SG = salivary gland, SGD = salivary gland duct, ST = stylets, SV = seminal vesicle, T = testis, and V = vulva.³⁵ Roman numerals designate leg bases (diagram based on Desch and Nutting,⁴⁰ 1977).³⁵ This figure is reprinted from "Nutting WMB, Andrews, JRH, Desch CE. Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. *Journal of Biological Education* 1979; 13: 315–21." copyright © The Society of Biology, with the permission of (Taylor & Francis Ltd, <http://www.tandf.co.uk/journals>) on behalf of The Society of Biology.

Relation between D and bacteria, and skin temperature

Papulopustular rosacea pustules are known to be sterile: the bacteriological samplings (direct examination and culture) show only commensal flora.⁵³ Whitfield *et al.*,⁵⁴ analysing 15 PPR, observed that the unique pure growth culture found was *Staphylococcus epidermidis*, and found this positive culture in nine patients, but only in their pustules, and on the inferior eyelid of four patients (not in the control subjects). As suggested by Yamasaki *et al.*,¹ this proliferation could be induced by the immune profile observed in PPR (LL-37 with low antibacterial power²).

Skin temperature could explain why commensal microorganisms become pathogens in PPR, as it influences the behaviour of bacteria⁵⁵ and *Demodex*.⁵⁶ *Staphylococcus Epidermidis* isolated from patients with rosacea secretes more proteins (of which a lipase) at 37° compared with 30°. The motility of D increases with temperature: at 37°C, the mites are extraordinarily active, but have a shorter survival time.⁵⁶ Perhaps an optimal temperature favouring D copulation exists? But this attractive hypothesis, relating the vascular and inflammatory processes of the disease, has not yet been confirmed: indeed, even if skin temperature does increase during flushes,⁵⁷ no significant difference in skin temperature is observed between either ETR or PPR affected areas and healthy controls, and between affected and non-affected areas both in the ETR as in the PPR group.⁵⁸

Some authors have investigated the hypothesis of bacteria carried inside the *Demodex*.^{59,60} Borgo *et al.*⁶⁰ tried to detect the bacterium *Wolbachia* within human and canine D mites, using PCR analysis: in none of the DNA extracts, was the bacterium detected. Lacey *et al.*⁵⁹ studied the role of the *Bacillus oleronius*, potentially ingested by D, in PPR: they analysed 40 D [1 D extracted from each patient with PPR ($n = 40$)]. They found only one specimen of this bacterium in only one of the 40 D. However, they showed that two Ag of this bacillus activated the peripheral blood mononuclear cell proliferation in 16/22 patients (73%) with rosacea and in 5/17 controls (29%) ($P = 0.0105$).⁵⁹ They suggested a prior sensitization to this bacterium in PPR patients.⁵⁹

Another study supports this hypothesis by finding a significant statistical correlation between serum immunoreactivity against this bacterium and rosacea.⁶¹ Owing to their increased TLR, rosacea patients might respond more than normal to commensal bacteria of the skin, and this could explain why different microbes could contribute to the disease.³

All this suggests that the proliferation of D induces an exaggerated immune reaction which indirectly (i) favours the proliferation of *Staphylococcus epidermidis*, and (ii) enhances an immune reaction against different types of microbes (as *Bacillus oleronius*).

On the other hand, bacteria could also influence D proliferation. Indeed, in 2009, Lai *et al.*⁶² showed that *Staphylococcus Epidermidis* is able to modulate the inflammation, by the secretion of lipoteichoic acid; this molecule has distinct effects depending on the cells type exposed: an anti-inflammatory action on keratinocytes, but a proinflammatory action on immune cells that normally exist in a sterile environment. Through this mechanism, the commensal bacteria are tolerated on the epidermal surface without initiating inflammation.⁶² As this molecule inhibits inflammation triggered by injury through a TLR2 dependant mechanism,⁶² it could, at least theoretically, also increase the tolerance for D. On the other hand, D, by its abrasive action, could favour the contact of this molecule with the dermis, and so, its proinflammatory action. This could be an explanation as to why D proliferate at a first stage, and produce an exaggerated immune reaction at a second stage.

Demodex and rosacea

Infection: high Demodex density in papulopustular rosacea

Since 1993, it has been demonstrated that the Dd is higher on the cheeks of patients with PPR than on the cheeks of control patients with healthy skin.^{7–11,63} Using the Standardized Skin Surface Biopsy (SSSB)(Fig. 1), a mean of 12.8 D/cm² is observed on the cheeks of patients with PPR, vs. 0.7 D/cm² for the control patients

($P < 0.001$).⁷ If the skin surface and the slide are cleaned with ether before performing the SSSB, an even higher Dd is obtained in patients with PPR ($m = 36 \text{ D/cm}^2$).⁶⁴ Moreover, PPR with normal Dd are rare and are probably induced by false negative results.^{64,65} Most of the D observed by SSSB are *D. folliculorum*, because *D. brevis*, which mainly lives deeper in the sebaceous glands, is rarely observed with this sampling method. We can suppose that *D. brevis* also proliferates in the sebaceous and Meibomian glands, being responsible for deeper papulo pustules, especially on the nose, and of chalazion²⁵ of the ocular rosacea, but this has not yet been proved.

Similarity between PPR and canine demodicosis

In veterinary medicine, the pathogenic role of D is not disputed, especially in dogs in which *D. canis* (and two other species of D recently recognized in some dogs) is responsible for a well-known and potentially fatal disease.⁶⁶ Whether a dog develops demodicosis depends on immunological factors that are affected by genetic influences: the great majority of clinical cases are seen in purebred dogs that are otherwise in generally good condition. A hereditary *D. canis*-specific T cell defect, of varying severity, is incriminated.^{66–68}

The prognosis clearly depends on the cellular immunity. If a cell mediate immune reaction⁶⁷ occurs, the disease spontaneously clears up: this is Localized Canine Demodicosis.

On the contrary, if there is no immune reaction, the proliferation of D is not curbed; moreover, as do most parasites, *D. canis* increases immunosuppression, creating a vicious circle.^{66,67} Later, the mites are released into the dermis where a granulomatous reaction occurs, with giant cells phagocytizing the mite. From the dermis, dead D are carried in the blood to internal organs. This condition is often complicated by a bacterial septicaemia.⁶⁶ This is Generalized Canine Demodicosis.

A lot of similarities can be observed between PPR and Generalized Canine Demodicosis: (i) like in the dog, more than one species of D are observed in the human skin; (ii) like in the dog, the great majority of PPR occurs among patients who are otherwise immunocompetent;⁶⁴ (iii) like in the dog, the pathogenicity of *D. folliculorum* is related to its proliferation and to the immune response of the host; (iv) like in the dog, interactions probably exist between D and bacteria; (v) both from a clinical and a histological point of view,^{66,69} PPR and the Generalized Canine Demodicosis look very much alike (Fig. 4).

Acaricidal creams treat PPR

Various authors report observing rosacea with a large number of D; most of them observe a decrease in the number of D following acaricidal treatments, concurrent with clinical improvement.^{13,16,19,70,71} This is what we have observed in our daily clinical practice for more than 10 years (Fig. 5). These are of course observational studies, they should be confirmed by clinical trials (on PPR using acaricidal treatments on D).

Nevertheless, the PPR localized on the nose usually show an incomplete response to the acaricidal creams and often require oral isotretinoin. This kind of rosacea is probably more closely linked to *D. brevis* proliferation: their deeper location in hypertrophic sebaceous glands of the nose could explain their stronger resistance to the topical acaricidal treatment, which is applied on the skin surface.

Pityriasis folliculorum: first step to PPR

The clinical entity 'pityriasis folliculorum' was described by Ayres in 1930. It consists of very small, discrete and regularly dispersed follicular scales, which often induce a false sensation of dry skin^{12,15} (Fig. 6a). In practice, patients come to the dermatologist with mainly subjective complaints (such as a sensation of pruritus, dry

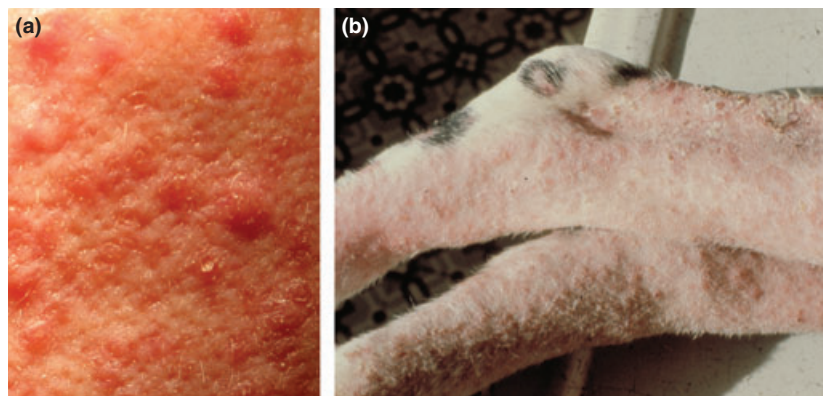


Figure 4 (a) Cheek of a woman with papulopustular rosacea. (b) Legs of a dog with Generalized Canine Demodicosis. From a clinical point of view, PPR and the Generalized Canine Demodicosis look very much alike: the deep violet papules of the Generalized Canine Demodicosis giving a mamilated aspect to the skin of the dog, closely resemble the papules of the patients with rosacea. The Figure 4b was given by Professor M Henroteaux, faculty of veterinary medicine, University of Liège, and is published with his permission.

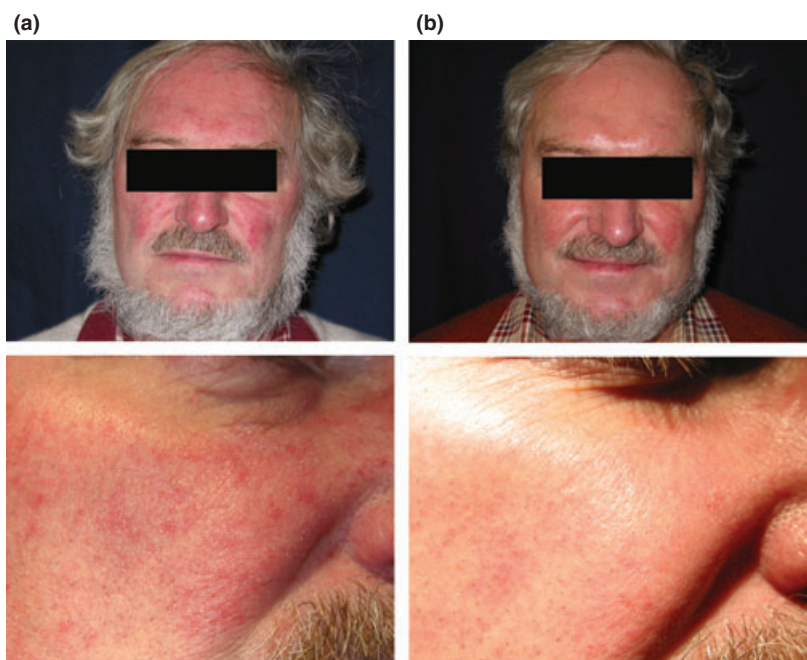


Figure 5 (a) 64 year old male patient presenting a papulopustular rosacea, present for the last 20 years. Before treatment, two successive standardized skin surface biopsies in the same place, on the cheek, reveal, respectively, 78 D/cm² and 204 D/cm². (b) After 2 months of local acaricidal treatment only, the skin is healthy and the two successive standardized skin surface biopsies in the same place on the cheek reveal, respectively, 0 and 0 D/cm².

skin, hypersensitive skin, irregular or rough skin) and the dermatologist is able to observe this very discrete picture only on close examination. Sometimes, the skin can even have a greasy aspect because the thin dry scales are covered by a layer of sebum. The diagnosis is made easier by cleaning the skin with ether and by tangential illumination: the thin whitish follicular scales then become more visible. They can be localized on the face, but also on the eyelids, the ears, the neck and the scalp: the equivalent of the facial follicular scales on the eyelids are cylindrical scales around the base of the lashes,^{23,72} and, on the scalp, they are a kind of dandruff.

The usual vascular symptoms described (diffuse flushing or erythema with follicular accentuation)^{12,15,73} have been observed in only 77% of our patients with pityriasis folliculorum:⁶⁴ although frequently associated, vascular symptoms are facultative to retain this diagnosis.

We have observed that this condition is more frequent than PPR: it is the most frequent demodicosis (54%),⁶⁴ but, as it is discrete, and not well known, it is usually²⁴ not properly diagnosed. In pityriasis folliculorum, which is characterized by discrete inflammatory symptoms (erythema), we observe a very high Dd (61 D/cm², $n = 45$) compared with a relatively lower Dd in PPR (36 D/cm², $n = 31$), which is characterized on the contrary by an important inflammatory response (papules, pustules) ($P = 0.04$)⁶⁴ (Fig. 6). Patients with pityriasis folliculorum are also a little older than the others⁶⁴ and it is known that older patients have a lower immunity. All this suggests that, in pityriasis folliculorum, a low immune reaction is responsible for a larger proliferation of D, and in PPR, the more intense immune reaction impairs the D proliferation, but without being completely effective, because it does not succeed in eliminating the mites.

Moreover, all intermediate degrees exist between pityriasis folliculorum and PPR: only discrete pityriasis folliculorum, the apparition of some papules and pustules, and true PPR (Fig. 6): papules appear on a ground of pityriasis folliculorum.

So, we could compare the pityriasis folliculorum with the first stage of the Generalized Canine Demodicosis,⁶⁷ where cellular reaction fails until hair follicle rupture.

Discussion

Direction of the causal relationship: Demodex-PPR

We analyse the direction of the causal relationship at different levels (molecular, histologic, clinic): does the inflammatory reaction of the PPR induce the D proliferation? Or does the D proliferation induce the inflammatory reaction?

- 1 Yamasaki *et al.*^{1,3} suggest that rosacea is originally a disease of the immune system: the immunological changes observed (LL-37), occurring at a first stage, could therefore favour D proliferation at a second stage. In this case, we should observe: (i) a higher Dd when inflammatory symptoms are intense (because LL-37 is responsible for the inflammatory symptoms); (ii) a large number of patients with PPR without high Dd, (iii) some of whom develop a pityriasis folliculorum secondarily. In reality, it's the contrary: (i) the highest Dd occurs when the clinical symptoms are the lowest; (ii) nearly all of our PPR (88% (42/48)) have high Dd;⁶⁴ (iii) and we observe a large number of patients with pityriasis folliculorum (more frequent than PPR),⁶⁴ some of whom only secondarily develop a PPR.
- 2 Could the high Dd be an epiphenomenon, secondary to the perifollicular infiltrate? Considering the usual host-

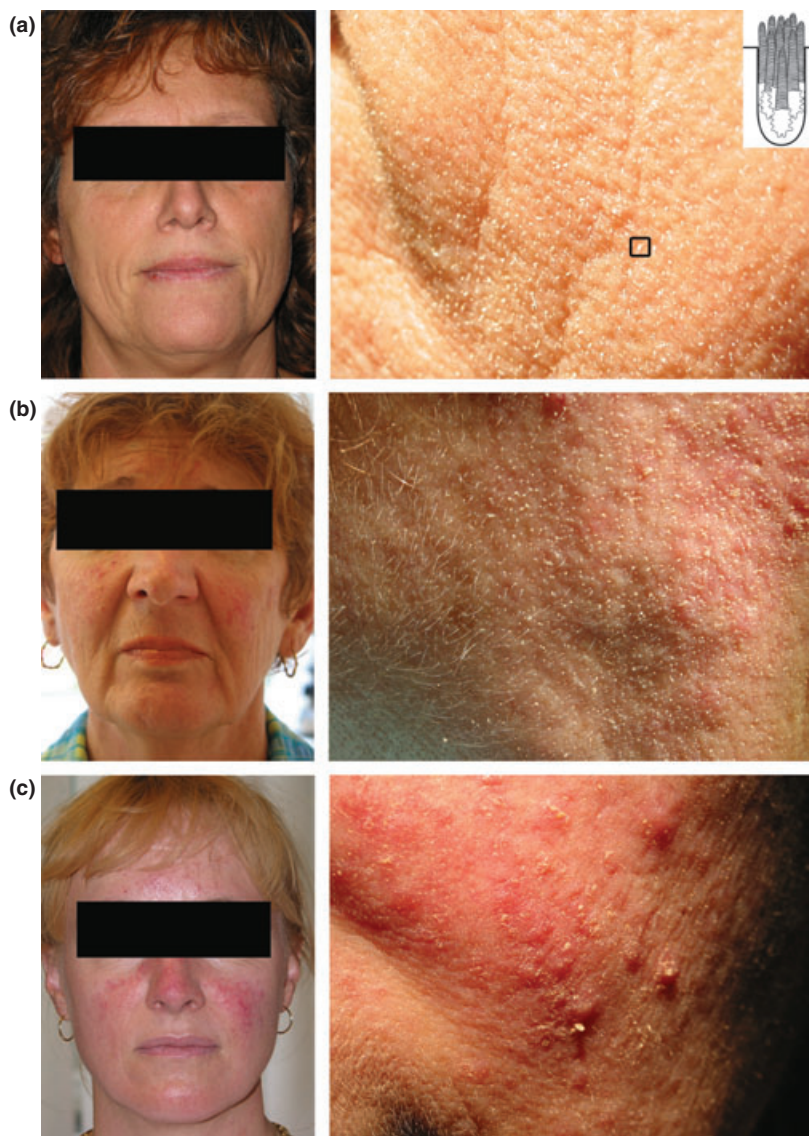


Figure 6 Patients with different levels of inflammation, with the values of two successive standardized skin surface biopsies performed in the same place on the cheek. The more intense the inflammatory reaction, the lower the Demodex density.⁶⁴ (a) Pityriasis folliculorum on a 50 year old woman with, respectively, 143 and 640 D/cm². Typical relatively discrete fine, dry and whitish scales, spread regularly over the face, with typical frosted appearance and rough texture.^{12,15} Each of these fine follicular scales (square) is nothing other than a group of opithosomes of Demodex protruding externally (insert). In spite of a high Demodex density, no clinical inflammatory reaction is observed. (b) Discrete papulopustular rosacea: telangiectasia, hillocky skin, and a few papules appear on the pityriasis folliculorum of a 71 year old woman, with 124 and 188 D/cm². (c) Papulopustular rosacea: erythema, follicular and non-follicular scales, deep and large papules, on a 48 year old woman, with two and 20 D/cm². The inflammatory symptoms are important and the Demodex density, although high, is relatively moderate compared with the other cases.

microorganism relations in medicine, the probability that D induces the perifollicular inflammation is higher than the converse: why should the mites proliferate in inflamed follicles?

- 3 Does the breach in the epithelium create the presence of the mite or does the mite create the breach? When we see the anatomy of D (Fig. 3), and the biopsies (Fig. 2a,b), it is obvious that D creates the breach, and might even actively pass through the follicular wall, and penetrate into the dermis.
- 4 Moreover, if the mite proliferation is a consequence of clinical lesions, D should proliferate in other close hyperkeratotic and inflamed facial skin diseases (as lupus erythematosus and ulerythema ophryogenes), which is not the case: so, the erythemasquamous condition is not the cause of the proliferation of the mite.

5 Finally, if D is not the cause of the inflammation, how could we explain clinical cures of rosacea by acaricidal treatments, concomitant with a decrease in the number of D?

All these arguments, (1) the apparent inverse proportion between LL-37 and Dd, (2) the perifollicular and granulomatous reaction which is a consequence of D, (3) the breach created by the mite, (4) the absence of D proliferation in other diseases, and (5) the action of acaricidal treatments on clinical lesions, strongly support the thesis that PPR is indeed caused by D and not the opposite.

Nosologic question

Several dermatologists recognize the role of D in Demodicosis Rosacea-Like, but not in PPR: they want to distinguish PPR from

demodicosis. This partition does not withstand the analysis. First, the clinical differences are very relative: (i) the pustules are described as being bigger in PPR.¹⁵ In practice, PPR only with deep pustules is rare: most of the time pustules of differing size are observed together, the size depending on the depth of the infiltrate (bigger when deeper). The deepest pustules could be related to the proliferation of *D. brevis* in the sebaceous glands. (ii) The follicular scales of the Demodicosis Rosacea-Like¹⁵ are almost always observed in case of PPR too, if the dermatologist searches for it by close examination after cleaning the skin with ether.

Secondly, in daily practice, PPR without high Dd are very rare:⁶⁴ if PPR without D proliferation existed, it would be a rare entity, almost never observed by dermatologists. However, the diagnosis of rosacea is frequently made. This means that the PPR diagnosed today are, in reality, demodicoses.

But why does Demodex proliferate in certain patients and not in others?

Akilov and Mumcuoglu⁷⁴ have published several immunological studies about the statistical relationship between demodicoses and immunological characteristics: they have studied HLA haplotypes, peripheral blood circulating lymphocytes,⁷⁵ and have highlighted

an immunosuppression amongst the patients with demodicoses. They have observed an association between the frequency of HLA Cw2 and Cw4 haplotypes and human demodicosis,⁷⁴ and have demonstrated that an increasing Dd is associated with an increasing trend of apoptosis in lymphocytes.⁷⁵ This immunosuppression could be a genetical predisposition facilitating the survival of the D, but could also be a secondary local immunosuppression, induced by the mite itself.⁷⁵

On the other hand, we observe that demodicoses are frequent in a healthy population, occurring among immunocompetent patients.⁶⁴ The particular immunological ground, favouring D proliferation, is certainly frequent in a healthy population, and is therefore to be considered as a mite-specific deficiency, and not as a deep immunosuppression, as in the canine demodicosis.

This genetically determined immunological ground could explain the relatively high frequency of the familial cases of rosacea and other demodicoses.

Not only innate immunosuppression but also acquired immunosuppression seem to favour D proliferation: Seyhan *et al.*⁷⁶ have observed a higher incidence of high Dd (≥ 5 D/cm²) in patients receiving chemotherapy than in a control group, and Karıncaoglu *et al.*⁷⁷ have observed that the Dd is higher in patients with end

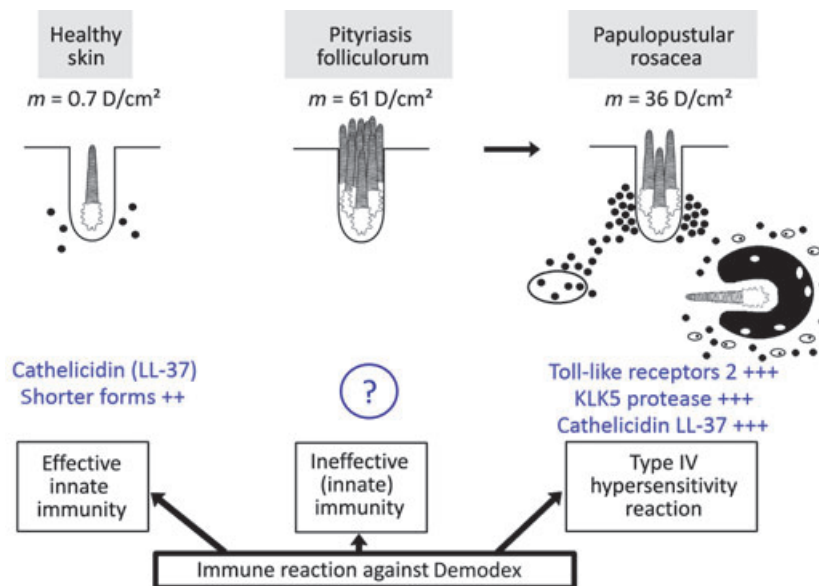


Figure 7 Physiopathology of papulopustular rosacea. Schematic representation assembling data from the recent molecular discoveries^{1,3} with the data concerning the Demodex in rosacea.^{7-13,15,16,19,24,26,28-30,47,49,50,63,64,74,75} (i) In healthy skin, the immunity is normal, with normal cathelicidin (rare LL-37; shorter forms predominating):² the immunity controls Demodex proliferation. (ii) In pityriasis folliculorum, in spite of a very high Demodex density, no significant inflammatory clinical reaction is observed: the cell-mediated immune response is absent or mild, probably due to a genetically determined specific defect of the innate immunity,⁷⁴ and aggravated by an immunosuppression induced by the Demodex.⁷⁵ (iii) In papulopustular rosacea, the immune reaction is exaggerated with increased Toll-Like receptors,³ excessive production of KLK5 and cathelicidin LL-37,¹ and a type IV hypersensitivity reaction,^{30,49,50} which is responsible for the formation of the papules and pustules clinically. This immune reaction partially limits the proliferation of the mite, without being completely effective. If the Demodex penetrates into the dermis, a granulomatous reaction occurs.^{24,26,28,29,47} In daily practice, the third condition appears on a ground of pityriasis folliculorum.

stage chronic renal failure (6.12 D/cm², $n = 62$) than in the control patients (0.31 D/cm², $n = 62$) ($P = 0,000$). Other factors like erythematotelangiectatic rosacea, skin temperature,⁵⁶ lack of soap,^{12,15,64,70} or thick layers of make-up,^{15,70} and sebaceous hyperplasia could also favour D proliferation.

Conclusion: pityriasis folliculorum as a missing link

All these studies and arguments confirm the pathogenic role of D in the inflammatory lesions of PPR, and support the hypothesis that: (i) at a first stage, a specific (innate or acquired) immune defect against D allows the proliferation of the mite (which probably itself increases the local immunosuppression); and (ii) at a second stage, after months or years, probably when the breaches in the epithelium become significant, or, as in dogs, when some mites penetrate into the dermis, the immunity is suddenly stimulated and produces an exaggerated (and not very effective) immune response, inducing the apparition of the papules and the pustules of PPR (Fig 7).

In this context, three different approaches appear to treat PPR. They are in order of increasing relevance, but can be complementary: (i) to struggle against the exaggerate immune reaction [according to the current guidelines (with tetracyclines and metronidazole) and also as proposed by Yamasaki *et al.*¹ (by influencing the balance of antimicrobial peptides)], (ii) to kill the mites (which is what we do with local acaricidal treatments), and (iii) to help patients themselves limit D proliferation (this is the way of the future).

To this purpose, it would be very interesting to identify the immune defect which allows the proliferation of D in first stage. We should find the answer to this question in studying the innate immunity in the pityriasis folliculorum, where D proliferates a lot without any clinical immune reaction of the host: the immune defect is isolated there, not masked by the secondary immune reaction observed in PPR. So, this condition appears as a 'missing link' in the understanding of rosacea.

Acknowledgements

I thank Professor M Henroteaux for his figure of canine demodicosis, (Taylor & Francis Ltd, <http://www.tandf.co.uk/journals>) and The Society of Biology for their acceptance to reprint the figure of the anatomy of the D, the Elsevier Masson edition for their acceptance to reprint the figures of microscopic views, Mr F Callebaut, Mrs C Leen and P Strong for supervising my English, the reviewers of the JEADV for their constructive remarks, and all the medical doctors and dermatologists who confide me regularly rosacea patients, of whom Professor V del Marmol, Drs B Seys, M Bernard, S Thibault, N Di Giacomo, I Willemot, L De Voecht, F Vandekerckhove, G Winkel, B Gerbaux, M Jacquemin, Y Heeren, M Kaesemans, J Vadoud, S Eggers, M Boone, B Gorller, H Boufessile, E Koelman, G d'Hoop and M Frings.

References

- 1 Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A *et al.* Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med* 2007; **13**: 975–980.
- 2 Schaubert J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol* 2008; **122**: 261–266.
- 3 Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT *et al.* TLR2 Expression Is Increased in Rosacea and Stimulates Enhanced Serine Protease Production by Keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 688–697.
- 4 Bevins ChL, Liu F-T. Rosacea: skin innate immunity gone awry? *Nat Med* 2007; **13**: 904–906.
- 5 Schaubert J, Dorschner RA, Coda AB *et al.* Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2007; **117**: 803–811.
- 6 Kaufmann-Wolf M. Über regelmäßiges Vorkommen von Demodex folliculorum in den Pusteln von Rosacea pustulosa. *Dermatol Wochenschr* 1925; **30**: 1095–1103.
- 7 Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 8 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- 9 Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997; **27**: 183–195.
- 10 Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; **37**: 421–425.
- 11 El Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA *et al.* The pathogenesis of Demodex folliculorum (hair follicular mites in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 2001; **31**: 867–875.
- 12 Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Dermatol Syphilol* 1930; **21**: 19–24.
- 13 Ayres S Jr, Anderson NP. Acne rosacea. Response to local treatment for Demodex folliculorum. *JAMA* 1933; **100**: 645–647.
- 14 Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. *Arch Dermatol* 1967; **95**: 63–66.
- 15 Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816–827.
- 16 Ruffi T, Mumcuoglu Y, Cajacob A *et al.* Demodex folliculorum: Zur Ätiopathogenese und Therapie der Rosazea und der perioralen Dermatitis. *Dermatologica* 1981; **162**: 12–26.
- 17 Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with Demodex folliculorum. *J Am Acad Dermatol* 1986; **15**: 1159–1162.
- 18 Hojyo T, Dominguez L. Demodicosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cut Iber Lat Am* 1976; **2**: 83–90.
- 19 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915–917.
- 20 Morgan RJ, Coston TO. Demodex blepharitis. *South Med J* 1964; **57**: 694–699.
- 21 Burns DA. Follicle mite and their role in disease. *Clin Exp Dermatol* 1992; **17**: 152–155.
- 22 Rodríguez AE, Ferrer C, Alió JL. Chronic blepharitis and Demodex. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2005; **80**: 635–642.
- 23 Gao YY, Di Pascuale MA, Li W *et al.* High prevalence of Demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; **46**: 3089–3094.
- 24 Hsu CK, Hsu MM, Lee JY. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**: 904–906.
- 25 Liu J, Sheha H, Tseng SC. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; **10**: 505–510.
- 26 Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. Demodex folliculorum und die Histogenese der granulomatösen Rosacea. *Hautarzt* 1974; **25**: 166–177.
- 27 Seifert HW. Demodex folliculorum als Ursache eines solitären tuberkuloiden Granuloms. *Z Hautkr* 1977; **53**: 540–542.
- 28 De Dulanto F, Camacho-Martinez F. Demodicidose "gravis". *Ann Dermatol Venereol* 1979; **106**: 699–704.

- 29 Ecker RI, Winkelmann RK. Demodex granuloma. *Arch Dermatol* 1979; **115**: 343–344.
- 30 Forton F. Demodex et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**: 1047–1058.
- 31 Kharfi M, Zarrouk H, Nikkels AF *et al.* Granulomatous rosacea and demodicidosis. *AJD* 1991; **4**: 39–43.
- 32 Helm KF, Menz J, Gibson LE *et al.* A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1991; **25**: 1038–1043.
- 33 Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; **133**: 294–299.
- 34 Pena GP, Andrade Filho JS. Is Demodex really non pathogenic? *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2000; **42**: 171–173.
- 35 Nutting WMB, Andrews JRH, Desch CE. Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. *J Biol Educ* 1979; **13**: 315–321.
- 36 Elston DM. Demodex Mites as a cause of human disease. *Cutis* 2005; **76**: 294–296.
- 37 Nutting WB. Hair Follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; **15**: 79–98.
- 38 Lacey N, Ni Raghallaigh S, Powell FC. Demodex Mites – Commensals, Parasites or Mutualistic Organisms? *Dermatology* 2011; **222**: 128–130.
- 39 Spickett SC. Studies on Demodex folliculorum Simon (1842). I. Life history. *Parasitology* 1961; **51**: 181–192.
- 40 Desch CE, Nutting WB. Morphology and functional anatomy of Demodex folliculorum (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977; **19**: 422–462.
- 41 Bukva V, Nutting WB, Desch CE. Description of Ophthalmodex Apodemi SP.N. (acari: demodicidae) from the ocular area of Apodemus sylvaticus (Rodentia: muridae) with notes on pathogenicity. *Internat J Acarol* 1992; **18**: 269–276.
- 42 Jing X, Shuling G, Ying L. Environmental scanning electron microscopy observation of the ultrastructure of Demodex. *Microsc Res Tech* 2005; **68**: 284–289.
- 43 Tsutsumi Y. Deposition of IgD, alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin on Demodex folliculorum and D. brevis infesting the pilosebaceous unit. *Pathol Int* 2004; **54**: 32–34.
- 44 Deleuran M, Ringer Ellingsen A, Paludan K *et al.* Purified Der p1 and p2 patch tests in patients with atopic dermatitis: evidence for both allergenicity and proteolytic irritancy. *Acta Derm Venereol* 1998; **78**: 241–243.
- 45 Meyer-Hoffert U. Reddish, scaly, and itchy: how proteases and their inhibitors contribute to inflammatory skin diseases. *Arch Immunol Ther Exp* 2009; **57**: 345–354.
- 46 Vollmer RT. Demodex-associated folliculitis. *Am J Dermatopathol* 1996; **18**: 589–591.
- 47 Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC *et al.* Rosacea: a clinicopathological approach. *Dermatology* 2004; **209**: 177–182.
- 48 Eismann R, Bramsiepe I, Danz B *et al.* Abscessing nodular demodicosis – therapy with ivermectin and permethrin. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; **24**: 79–81.
- 49 Ruffli T, Büchner SA. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of Demodex folliculorum. *Dermatologica* 1984; **169**: 1–5.
- 50 Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD *et al.* Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 441–444.
- 51 Kim JT, Lee SH, Chun YS *et al.* Tear cytokines and chemokines in patients with Demodex Blepharitis. *Cytokine* 2011; **53**: 94–99.
- 52 Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-responsive Demodex infestation during human immunodeficiency virus infection. *Dermatology* 2002; **205**: 394–397.
- 53 Marks R. Concepts in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 1968; **80**: 170–177.
- 54 Whitfield M, Gunasingam N, Leow LJ *et al.* Staphylococcus epidermidis: a possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2011; **64**: 49–52.
- 55 Dahl MV, Ross AJ, Schlievert PM. Temperature regulates bacterial protein production: possible role in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2004; **50**: 266–272.
- 56 Zhao YE, Guo N, Wu LP. The effect of temperature on the viability of Demodex folliculorum and Demodex brevis. *Parasitol Res* 2009; **105**: 1623–1628.
- 57 Parodi A, Guarrera M, Rebora A. Flushing in rosacea: an experimental approach. *Arch Dermatol Res* 1980; **269**: 269–273.
- 58 Guzman-Sanchez DA, Ishiui Y, Patel T *et al.* Enhanced skin blood flow and sensitivity to noxious heat stimuli in papulopustular rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2007; **57**: 800–805.
- 59 Lacey N, Delaney S, Kavanagh K *et al.* Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br J Dermatol* 2007; **157**: 474–481.
- 60 Borgo SN, Sattler EC, Hogardt M, Adler K, Plewig G. PCR analysis for Wolbachia in human and canine Demodex mites. *Arch Dermatol Res* 2009; **301**: 747–752.
- 61 Li J, O'Reilly N, Sheha H *et al.* Correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity to Bacillus proteins in patients with facial rosacea. *Ophthalmology* 2010; **117**: 870–877.
- 62 Lai Y, Di Nardo A, Nakatsuji T *et al.* Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat Med* 2009; **15**: 1377–1382.
- 63 Zhao YE, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; **146**: 896–902.
- 64 Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- 65 Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of Demodex folliculorum. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**: 697–700.
- 66 Scott DW, Miller WH, Griffin CE, eds. *Muller and Kirk's. Small Animal Dermatology*, 6th edn. WB Saunders, Philadelphia, 2000: 457–476.
- 67 Scott DW, Schultz RD, Baker E. Further studies on the therapeutic and immunologic aspects of generalized demodectic mange in the dog. *JAAHA* 1976; **12**: 203–213.
- 68 Gortel K. Update on canine demodicosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; **6**: 229–241.
- 69 Ruffli T, Mumcuoglu Y. The Hair Follicle Mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: biology and medical importance. *Dermatologica* 1981; **162**: 1–11.
- 70 Ayres S Jr, Anderson NP. Demodex folliculorum: its role on the etiology of acne rosacea. *Arch Dermatol Syphilol* 1932; **25**: 89–98.
- 71 Varotti C, Ghetti P, Negosanti M *et al.* Demodex folliculorum ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol* 1981; **116**: 489–491.
- 72 Norn MS. Demodex folliculorum. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta ophthalmol* 1970; **108**(Suppl.): 1–85.
- 73 Dominey A, Tschen J, Rosen T *et al.* Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 81–84.
- 74 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicidosis and HLA class I. *Exp Dermatol* 2003; **28**: 70–73.
- 75 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**: 440–444.
- 76 Seyhan ME, Karıncaoglu Y, Bayram N *et al.* Density of Demodex folliculorum in Haematological Malignancies. *J Int Med Res* 2004; **32**: 411–415.
- 77 Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N *et al.* Incidence of Demodex folliculorum in patients with end stage chronic renal failure. *Ren Fail* 2005; **27**: 495–499.

Cette revue reprend donc les arguments qui soutiennent la thèse du rôle central du Demodex dans la rosacée et éclaire d'un jour nouveau l'entité si mal diagnostiquée par les dermatologues, le pityriasis folliculorum, en lui donnant sa place : un « chaînon manquant » permettant de comprendre comment le parasite cause la RPP.

Elle analyse aussi de façon critique une question très souvent évoquée qui est **l'interaction entre le Demodex et les bactéries**,⁴²⁰ dont certains points sont repris ci-dessous au vu de l'importance du sujet : ils explorent les voies par lesquelles les principales bactéries pourraient contribuer à la maladie de concert avec le Demodex. **Le *Bacillus oleronius***^{171,276} a souvent été évoqué dans la littérature, mais à tort à notre avis : bien qu'il ait été montré capable de stimuler l'immunité,^{245,426} il n'a été retrouvé que tout à fait exceptionnellement dans les parasites²⁷⁶ (détails dans l'article),²⁰⁵ et les Demodex portent par ailleurs en leur sein toute une série de bactéries commensales (§ 1.3.6.).²⁷⁵ Il est tout à fait possible que, **une fois leur TLR2 accru** dans un premier temps suite à l'infestation des Demodex (Fig. 60 § 1.4.8.2. A.), les patients atteints de rosacée **puissent réagir plus** que la normale aux bactéries, mais ceci dans un deuxième temps : ainsi pourraient s'expliquer les réactivités accrues aux différentes bactéries (y compris au *Bacillus oleronius*).⁴⁰⁸

Depuis la parution de cet article, des bactéries endosymbiotiques du Demodex ont été identifiées : les ***Corynebacterium kroppenstedtii*** (§ 1.1.4.2. C.).⁶⁷ Comme ces bactéries sont libérées dans le follicule quand le Demodex meurt et se désagrège, elles pourraient, elles aussi, déclencher des réactions immunitaires (comme cela a été montré pour le *Bacillus oleronius*).⁴²⁶ Leur libération massive probable lors des premiers jours de traitement par ivermectine pourrait ainsi être responsable du rebond de la rosacée observée en début de traitement (§ 1.4.9.2.).

Le ***Staphylocoque epidermidis*** est une bactérie commensale de la peau, qui n'induit que peu de peptides antimicrobiens via les TLR2, et leur résiste relativement bien, mais qui est par contre capable d'amplifier la réponse immunitaire des kératinocytes vis-à-vis des pathogènes.⁵⁵⁵ La présence du *Staphylocoque epidermidis*, relativement fréquente dans la rosacée (§ 1.4.8.3.), pourrait être induite par le profil immunitaire observé dans RPP,³⁹⁹ puisque les LL-37 anormaux de la rosacée n'ont qu'une faible action antibactérienne.⁴⁰²

Le *Staphylocoque epidermidis* pourrait favoriser la prolifération du Demodex de façon indirecte, et créer par là un cercle vicieux. En effet, en 2009, Lai *et al* ont montré que le *Staphylococcus epidermidis* était capable de moduler l'inflammation, par la sécrétion d'acide lipoteichoïque ; cette molécule a des effets distincts selon le type de cellules exposées : une action anti-inflammatoire sur les kératinocytes, mais une action pro-inflammatoire sur les cellules immunitaires qui existent normalement dans un environnement stérile.⁵⁵⁶ Par ce mécanisme, les

bactéries commensales sont tolérées à la surface de l'épiderme sans déclencher d'inflammation,⁵⁵⁶ et deviennent pathogènes quand la barrière cutanée compromise.⁴²⁰ Comme cette molécule inhibe l'inflammation déclenchée par les TLR2,⁵⁵⁶ elle pourrait, en théorie, **également augmenter la tolérance pour le Demodex**.

Par ailleurs, le Demodex, par son action abrasive, pourrait favoriser le contact de cette molécule avec le derme, et donc son action pro-inflammatoire : le Demodex pourrait déclencher le pouvoir pathogène du *Staphylocoque epidermidis*.

La présence du ***Staphylocoque epidermidis*** pourrait donc contribuer à **expliquer pourquoi le Demodex prolifère dans un premier temps et provoque une réaction immunitaire exagérée dans un deuxième temps** (Fig. 76).

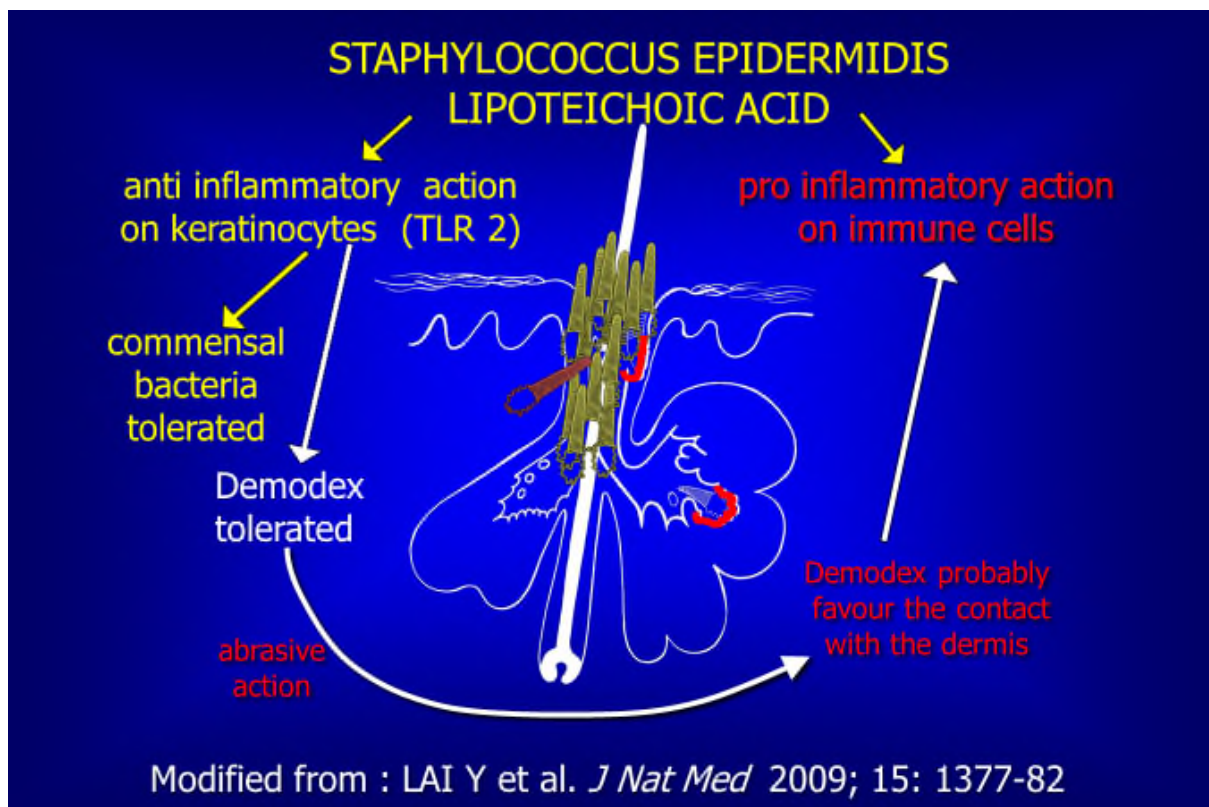
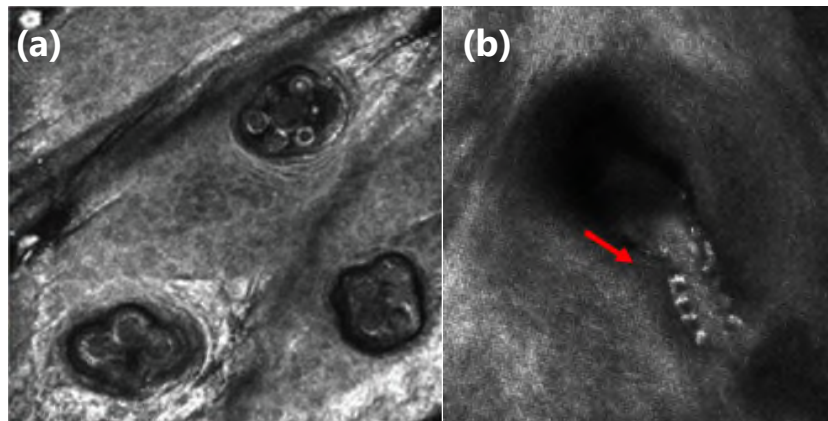


Fig. 76. Représentation schématique d'une hypothèse pouvant expliquer comment le ***Staphylocoque epidermidis*** pourrait favoriser la prolifération de Demodex en endormant l'immunité et comment le Demodex pourrait ensuite la réveiller via ce même ***Staphylocoque epidermidis***.

3.10. 2013 : Microscopie confocale & Demodex⁵⁵⁷ Lettre à l'Editeur

Une nouvelle technique apparait à cette époque pour examiner la surface de la peau, la microscopie confocale (confocal laser microscopy (CLM)), qui permet de visualiser les Demodex :⁵⁴⁵ ils y apparaissent comme de petites structures grisâtres arrondies au contour brillant^{207,545,546} (Fig. 77) (dont le diamètre de 6 µm mentionné dans un des articles⁵⁴⁵ paraît étrange car le diamètre d'un opisthosome est de 31 à 44 µm).¹⁴ Cette brillance disparaît quand ils meurent, les parasites devenant fantomatiques.⁵²⁵ Ils se différencient des poils de duvet qui sont plus fins, plus longs et paraissent « vides » à l'intérieur.⁵⁴⁴

Fig. 77. Demodex visualisés en microscopie confocale :
(a) follicules pileux dilatés remplis de nombreux Demodex.



(b) En 2020, a été publié une photo exceptionnelle d'un Demodex dans le plan horizontal où ses 4 pattes gauches sont clairement visibles.

La photo (a) est reproduite depuis « Harmelin Y *et al.* Interest of confocal laser scanning microscopy for the diagnosis and treatment monitoring of demodicosis. *J Eur Acad Derm Venereol* 2014; 28: 255-257»;²⁰⁷ La photo (b) est un fragment de photo reproduit depuis «Ribeiro AE *et al.* Reflectance confocal microscopy enabling full viewing of Demodex sp. *Int J Dermatol* 2020; 59: 1020-1021».⁵⁵⁸

Quelques auteurs utilisent cette technique pour mesurer la densité du parasite et suivre l'effet du traitement sur les Demodex^{207,525} (en se contentant parfois d'une réduction de 75% de la densité pour établir la guérison).⁵²⁵ Ils présentent cette technique comme plus sensible que le simple grattage²⁰⁷ et plus pertinente que la SSSB car plus sensible et non invasive.⁵⁵¹ Avec le critère de « Dd > 0,17 Demodex par follicule », Erdemir *et al* ont une sensibilité de 82% et une spécificité de 80% pour le diagnostic de RPP.²²⁹ Avec le critère de « au moins 1 follicule avec 4 D minimum » sur une surface de 5x5 mm², Sattler *et al* ont une sensibilité de 84% et une spécificité de 72% pour le diagnostic de RPP.³⁴⁵ La CLM serait aussi plus sensible que l'épilation de 7 à 10 cils au niveau oculaire, et permet de visualiser l'inflammation des glandes de Meibomius.¹⁷² Mais pour Muntz *et al*, cette méthode n'est pas fiable au niveau des cils pour identifier avec certitude les Demodex.¹⁷⁰

Suite à la parution de l'article de Sattler, qui qualifie la SSSB de méthode invasive ou semi-invasive,³⁴⁵ Frank Powell nous a proposé d'écrire avec lui une lettre à l'éditeur, pour défendre la SSSB, lettre à laquelle les auteurs ont ensuite répondu.

Demodex quantification methods: limitations of confocal laser scanning microscopy

DOI: 10.1111/bjd.12280

MADAM, We read with interest the recent paper by Sattler *et al.*¹ describing the quantification of *Demodex* mites using confocal laser scanning microscopy (CLSM). Their work is interesting but we feel that there are limitations to the use of this method for accurately detecting absolute numbers of mites in human skin. Because the role of *Demodex* in normal or diseased skin is unknown,² and because of their possible role in modulation of immune reactivity of the follicle³ and an association between the degree of mite infestation and the development of rosacea,^{4–6} the need for accurate reproducible *in vivo* methods of quantifying mites is becoming increasingly important.

Demodex folliculorum and *Demodex brevis* are most numerous in the sebaceous follicles of the central facial skin of humans. The upper portion and infundibulum of the sebaceous follicle appear to be populated almost entirely by mature adult *D. folliculorum* (some of which are dead). Histological sections of skin show that mites are orientated with their cephalic portion downwards in the follicular canal and their vermiform opisthosoma upwards protruding into the follicular ostium. Figure 1 in the publication by Sattler *et al.* nicely shows the opisthosoma of several mites within the infundibulum of a follicle. Figure 2 in their article is unclear, as the 'lengthy cone-shaped body' of *Demodex* 'cut sideways' is not apparent to these authors.

The standardized skin surface biopsy (SSSB) technique, which utilizes cyanoacrylate glue on a glass slide to extract the contents of follicles, has been the standard reproducible *in vivo* method used for extracting and counting mites in patients and controls.^{5,6} One of us (F.M.N.F.) has shown that repeated SSSBs carried out in identical areas of facial skin consistently yield more mites on the second and third extractions,⁷ and that low mite counts or false negatives on the first SSSB can occur for a variety of reasons. *Demodex folliculorum* measures 100–400 μm in length. We estimate that the first SSSB extracts, approximately, the contents of the first 300–400 μm of the follicle. The mites obtained on this extraction would correspond to those visualized by the CLSM method. The second SSSB taken from the same follicles analyses to an estimated depth of 600 μm , as the glue penetrates and adheres to the deeper follicular contents resulting in a higher mite count with this extraction. Using SSSB, the upper limit in *Demodex* density in normal human facial skin has been established as five *Demodex* per cm^2 , with a specificity of 98% and a sensitivity of 55%.⁶ Using their method, Sattler *et al.* propose as a criterion of infestation the detection of at least one follicle with four or more mites in a 5 \times 5-mm mosaic.¹ To compare accurately the *Demodex* counts recorded by Sattler *et al.* (on a surface of 5 \times 5 mm) with the *Demodex* found by SSSB on a surface of 1 cm^2 would require a specific study. However, a

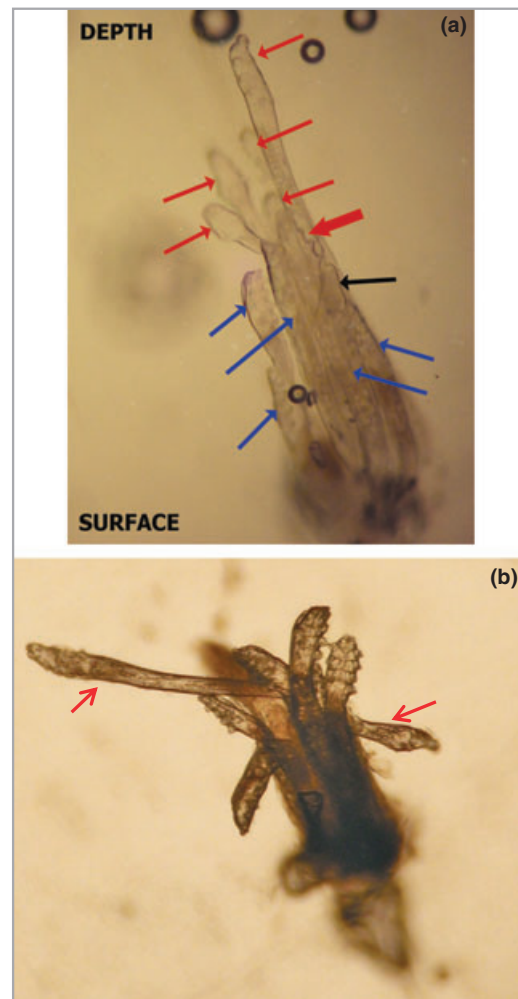


Fig 1. (a) Twelve *Demodex folliculorum* life stages from a single follicle, viewed under light microscopy (original magnification $\times 40$), after extraction using the standardized skin surface biopsy (SSSB) method. From the surface to the depth of the follicle, five adult mites (blue arrows), with their opisthosoma in the glue, should theoretically be visible with confocal laser scanning microscopy (CLSM). More deeply situated are an ovum (black arrow), a protonymph (large red arrow) and five larval or nymph life stages (thin red arrows). Most of these seven immature mite forms seem out of reach and undetectable with the CLSM method. (b) Six adult *D. folliculorum* mites and two larval stages (indicated by arrows) from a single follicle, viewed under light microscopy (original magnification $\times 40$), after extraction using the SSSB method.

crude estimated comparison may be obtained by multiplying their mean mite count per 5 \times 5 mm by four to obtain a figure equivalent to what the *Demodex* numbers on 1 cm^2 would be using their method. This suggests that 376.8 *Demodex* per cm^2 would be found in their patients with rosacea (equivalent to 94.2 *Demodex* per 5 \times 5 mm) and 89.6 per cm^2 in their control patients (equivalent to 22.4 *Demodex* per 5 \times 5 mm). These numbers far exceed any of the published figures in studies using the SSSB technique, where 0–2 *Demodex* per cm^2 are found in control subjects, and 8.1–36 *Demodex* per cm^2 in patients with rosacea.⁸ Taking into consideration that the

extraction of mites from follicles using the SSSB technique is likely to have a higher yield than the images of follicular orifices using CLSM, these figures raise the possibility of false-positive identification of *Demodex* with the CLSM technique.

Our combined experience of several thousand SSSBs, many of which were repeated in the same patients, is that subject discomfort is minimal and scarring does not occur. The cost (microscope, slides, glue) is low and the technique can be safely carried out in the clinic without specialized equipment. Contrary to the suggestion of Sattler et al., the SSSB method allows superior evaluation of mite morphology and viability than CLSM. In addition, SSSB allows identification of mite life stages – ovum, larva, protonymph, nymph (Fig. 1a,b) – and sometimes *D. brevis*. All of these mite-related elements are relevant to estimating the mite population and may also be important in understanding the role of these ubiquitous organisms in human skin.

We suggest that, before CLSM is accepted as a reliable method for determining mite numbers in human skin, comparative studies of the SSSB and CLSM techniques need to be carried out to evaluate their relative qualities.

¹Charles Institute of Dermatology, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland

²Department of Dermatology, Private Practice, Rue Frans Binjé 8–1030, Brussels, Belgium

E-mail: noreen.lacey@ucd.ie

N. LACEY¹

F.M.N. FORTON²

F.C. POWELL¹

References

- Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS et al. Noninvasive *in vivo* detection and quantification of *Demodex* mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012; **167**:1042–7.
- Lacey N, Raghallaigh S, Powell FC. *Demodex* mites – commensals, parasites or mutualistic organisms? *Dermatology* 2011; **222**:128–30.
- Lacey N, Powell FC. Response of normal human keratinocytes to live *Demodex* mites. *J Invest Dermatol* 2012; **132**:S138–61.
- Zhao YE, Wu LP, Yang P et al. Retrospective analysis of the association between *Demodex* infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; **146**:896–902.
- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**:443–8.
- Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**:650–9.
- Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**:697–700.
- Forton F, Germaux M, Brasseur T et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**:74–87.

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None declared.

Noninvasive *in vivo* detection and quantification of *Demodex* mites by confocal laser scanning microscopy: reply from the authors

DOI: 10.1111/bjd.12281

MADAM, We thank Lacey et al.¹ for their interesting and very welcome thoughts concerning our article on the usefulness of confocal laser scanning microscopy (CLSM) in the quantification of *Demodex* mites, and for their excellent pictures of *Demodex* mites, seen under the light microscope after extraction using the standardized skin surface biopsy (SSSB) method.

As a centre specialized in acne and rosacea we are also using SSSB routinely as the standard method for *Demodex* quantification and have gathered ample experience within the past decades. We agree that mainly *Demodex folliculorum* is detected with SSSB and especially with CLSM (with a penetration depth limited to about 200–300 µm), as *D. folliculorum* is usually located at the upper part of the infundibulum of the hair follicle, while *Demodex brevis* is usually seen at the lower portion close to the sebaceous glands. Thus *D. brevis* may be more frequently identified by SSSB, as well as the different life stages. This may be important in understanding the role of *Demodex* mites in human skin, but in our experience the main question in daily practice is: ‘Is the number of *Demodex* mites normal or are there too many?’ Our data suggest that CLSM offers a non-invasive and quick method to answer this question *in vivo*.²

In their letter Lacey et al. are trying to compare the standard ranges of mite numbers from SSSB with the ones we found using CLSM.¹ In contrast to Lacey et al. we are not surprised that the numbers of mites per cm² resulting from the two methods differ – supposing that the estimation done by the authors is valid – as in our eyes we cannot compare an *in vivo* method (CLSM) with an *ex vivo* method (SSSB). With SSSB, superficial layers of the skin are taken off the patient, i.e. biopsied and then viewed under the light microscope *ex vivo*. As described by Forton and Song³ the first SSSB yields only parts of the mites in the skin, while on second and third repeated SSSBs of the same facial site more mites, but probably still not all, are extracted. So the given ranges of *Demodex* mites for control subjects and patients with rosacea per cm² state the numbers of mites in the extracted biopsies. This being well documented and validated in several studies and reproducible for SSSB,⁴ it does not necessarily correspond to the real numbers of mites per cm² of living skin and cannot be transferred as standard ranges for other methods. Accordingly, we expect the number of mites measured with a method scanning the unaltered *in vivo* status of the skin to be higher than the results from an *ex vivo* procedure, in which probably some of the mites still remain in the skin.

Figure 1a by Lacey et al.¹ shows very nicely 12 mites in different life stages in one follicle, which corresponds very well

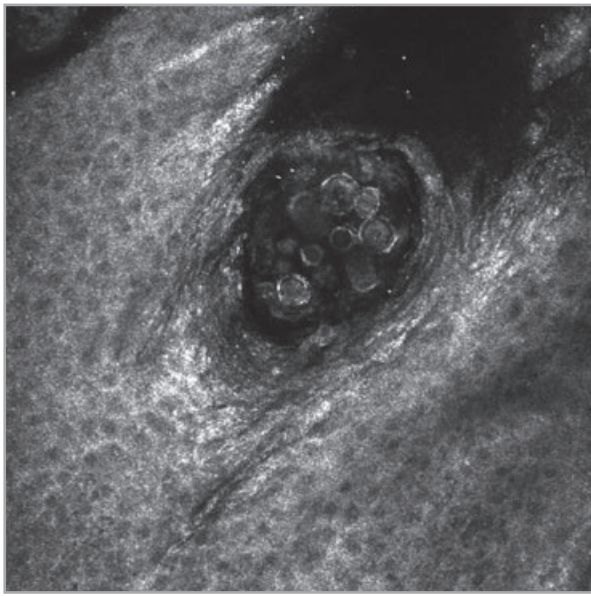


Fig 1. Confocal image of 11 *Demodex* mites in one hair follicle corresponding very well to Figure 1a by Lacey et al.¹ [Vivascope 1500[®] (MAVIG, Munich, Germany), image size 500 × 500 μm, depth of focal plane $z = 34$ μm].

to our experience with CLSM, where we could also sometimes detect more than 10 mites per follicle (Fig. 1). Yet, if 36 mites per cm² is the upper end of the range in patients with rosacea using SSSB, that would mean that only three such follicles with 12 mites would be infested out of hundreds of hair follicles in 1 cm² of skin. This is in contrast to what we see in the CLSM images, where even on one image of a size of 500 × 500 μm (100 of those make up a 5 × 5-mm mosaic, taken by four would equal 1 cm², so one CLSM image shows 1/400 of 1 cm² skin) we can sometimes find more than one infested follicle, as demonstrated in Figure 2.

The relatively high numbers of mites per cm² measured with CLSM correspond very well with the results of another group from France, who found similarly high numbers of mites using CLSM as reported at the International Confocal Group Meeting in Lisbon in 2011.⁵ In contradiction to the assumption of a false-positive identification of *Demodex* mites by CLSM stands the fact that also with optical coherence tomography we could detect higher numbers of mites *in vivo* compared with SSSB.⁶

As CLSM is a new approach for the quantification of *Demodex* mites, we feel that confirmation of our data is necessary (and we suggest that data-driven cut-off levels should be consolidated) by other groups and with larger datasets. Supposing that further studies can sustain the usefulness of CLSM as an alternative quantification method for *Demodex* mites, another advantage of CLSM compared with SSSB is that, by leaving the area of interest unaltered, the exact same site can be monitored over time, e.g. to demonstrate therapeutic efficacy.

In conclusion, we absolutely agree that a prospective comparative study between the two methods would be very valuable. But the primary objective – instead of comparing

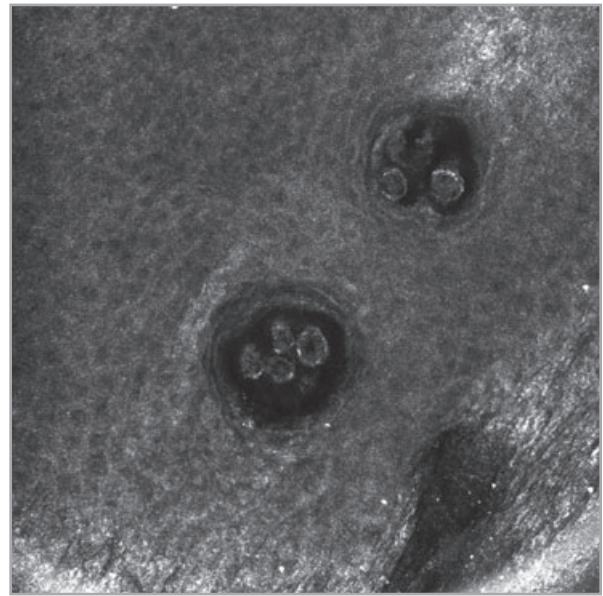


Fig 2. Confocal image demonstrating the *Demodex* mite infestation of two neighbouring hair follicles. One single confocal laser scanning microscopy image of the size of 500 × 500 μm gives the impression of 1/400 of 1 cm² of skin [Vivascope 1500[®] (MAVIG, Munich, Germany), image size 500 × 500 μm, $z = 85$ μm].

absolute numbers – would rather be to determine whether CLSM and the present gold-standard SSSB identify the same number of patients with normal or increased infestation with *Demodex* mites. Then CLSM would be a good method for quick clinical diagnostics, while SSSB will still be irreplaceable, for example, for the differentiation of life stages.

¹Department of Dermatology and Allergology, Ludwig-Maximilian University Munich, Frauenlobstr. 9–11, 80337 Munich, Germany

²Institute of Medical Information Sciences, Biometry and Epidemiology (IBE), Ludwig-Maximilian University Munich, Marchioninistrasse 15, 81377 Munich, Germany

E-mail: elke.sattler@med.uni-muenchen.de

E.C. SATTLER¹
T. MAIER¹
V.S. HOFFMANN²
T. RUZICKA¹
C. BERKING¹

References

- Lacey N, Forton FMN, Powell FC. *Demodex* quantification methods: limitations of confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2013; **168**:212–3.
- Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS et al. Noninvasive *in vivo* detection and quantification of *Demodex* mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012; **167**:1042–7.
- Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**:697–700.
- Forton F, Germaux MA, Brasseur T et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**:74–87.

5 Harmelin Y, Tsilika K, Erfan N et al. Interest of RCM for Detection and Quantification of Demodex in Facial Dermatoses. Presented at the International Confocal Group Meeting, Lisbon, 2011.

6 Maier T, Sattler E, Braun-Falco M et al. High-definition optical coherence tomography for the in-vivo detection of Demodex mites. *Dermatology* 2012; 225:271-6.

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None declared.

Ainsi, la microscopie confocale n'est peut-être pas si sensible ni spécifique que cela : elle nous paraît être un outil du futur, actuellement confiné à l'usage académique universitaire, utile pour la recherche, mais inaccessible à la plupart des dermatologues.⁵⁵⁷ La SSSB n'étant quasi pas invasive,^{69,126,543} le rapport avantages/inconvénients est nettement en faveur de la SSSB en pratique quotidienne.

Les limites évoquées de la CLM ont été confirmées tout récemment par Logger *et al* :

- La profondeur maximale d'analyse de la CLM est d'environ 300 µm, et sa résolution diminue considérablement en dessous d'une profondeur de 100 à 150 µm, ce qui limite l'interprétation diagnostique précise à l'épiderme et au derme superficiel.⁵⁵⁹ Rappelons qu'un *D folliculorum* mesure 300 à 400 µm de long et que les parasites s'échelonnent le long du follicule pileux (§ 3.3.). Et donc, la CLM ne montre qu'un seul « étage » de Demodex ;²⁹¹
- Le *Demodex brevis* n'est pas détectable par CLM car il vit sous la profondeur de visualisation maximale de la CLM, dans les glandes sébacées ;²⁹¹
- La CLM ne permet pas d'évaluer la viabilité des acariens, ni leur stade d'évolution (larve ? adulte ?) ;²⁹¹
- Et de plus, les Demodex peuvent apparaître de façon douteuse, pouvant être confondus avec d'autres structures intra-folliculaires (sébum, mélange de détritres « boue », poils, Demodex en voie de désintégration) (Fig. 78) ;²⁹¹
- L'analyse d'une surface cutanée convexe est problématique, puisque l'appareil analyse des plans horizontaux ;²⁹¹
- L'usage de la CLM nécessite un apprentissage et un entraînement de l'utilisateur, l'analyse des images prend du temps, l'appareil est encombrant, doit être relié à une prise de courant, et met environ 10 minutes pour s'allumer.²⁹¹

Et Logger *et al* en arrivent à la même conclusion que nous : compte tenu de tous ces facteurs, en dépit de son caractère non invasif, la CLM dans sa forme actuelle semble inadaptée à la surveillance rapide des patients atteints de rosacée dans la pratique clinique quotidienne,²⁹¹ et est plus destiné à la recherche.⁵⁶⁰

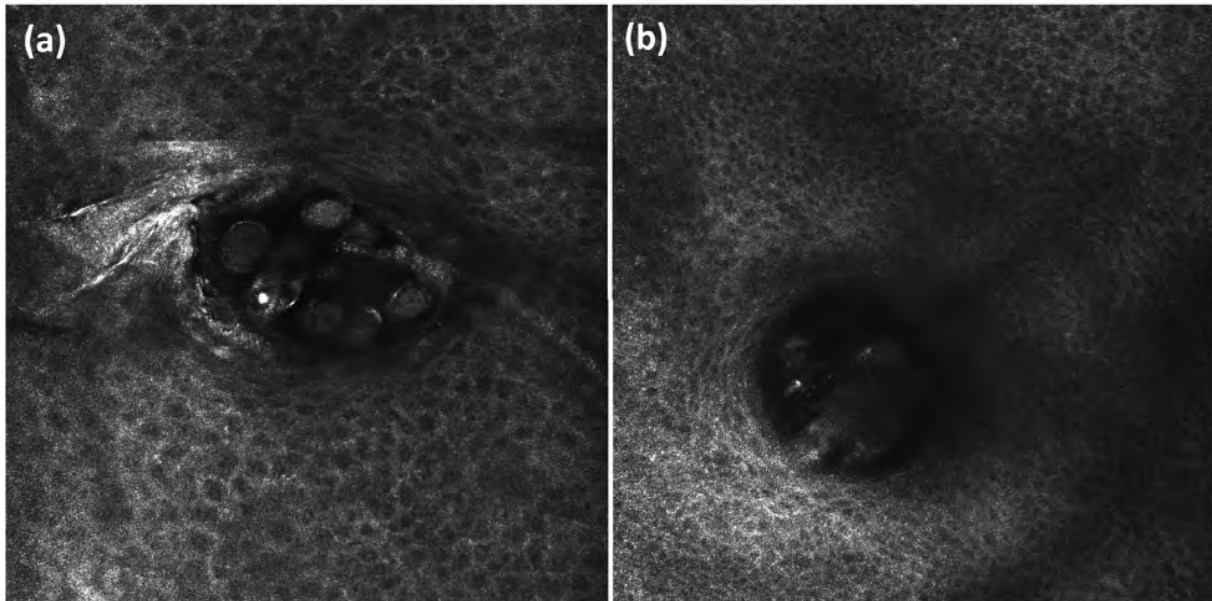


Fig. 78. L'identification des Demodex n'est pas toujours évidente par CLM.

Les parasites peuvent être identifiés de façon **(a) claire** (sept Demodex « clairement » visibles sous forme de contours ronds et brillants), **ou (b) douteuse** (le contenu n'est pas bien visualisé, apparaissant sous forme de vagues structures blanches et arrondies).²⁹¹

Cette figure est reproduite depuis l'article « Logger JGM *et al.* Value of reflectance confocal microscopy for the monitoring of rosacea during treatment with topical ivermectin, *J Dermatolog Treat* 2020, DOI: 10.1080/09546634.2020.1741501.²⁹¹

3.11. 2015 : Nosologie, démodécies & rosacée¹¹¹

Lettre à l'Editeur

En 2014, Chen et Plewig ont proposé une nouvelle classification des démodécies, distinguant des **démodécies primaires** (incluant le pityriasis folliculorum, la démodécie pseudo-rosacée, oculaire et auriculaire) et des **démodécies secondaires**, soit à d'autres dermatoses inflammatoires (comme la RPP, l'acné, la dermatite séborrhéique ou la dermatite péri-orale), soit à des maladies systémiques immunosuppressives (Fig. 64 § 1.4.8.5.).¹¹⁰ En 2015, ils suggéreront que les papulopustules du visage sans érythème persistant correspondent probablement à une « démodécie primaire papulopustuleuse ». ¹⁰⁷ Ils reconnaissent que le point crucial est le pityriasis folliculorum, à l'instar de ce que nous venions de publier (§ 3.9.), mais ne citent pas notre article à cet endroit précis de leur article et proposent de remplacer ce terme par « **spinulate demodicosis** ». Ils mettent en doute le seuil de 5 D/cm² que nous avons proposé en 1993, par SSSB, parce que (1) il serait basé sur des études très limitées (et ne donnent comme référence que notre propre article)⁵¹ et que (2) dans les autres études, les groupes témoins seraient souvent absents.¹¹⁰ Enfin, ils font référence à un article faisant état d'une Dd plus élevée parmi les témoins que dans les autres études, cet article étant une publication post mortem d'un document de travail du professeur Kligman, par un de ses collègues.⁵⁴⁰ Nous pensons que le professeur Kligman n'était probablement pas familier avec le diagnostic de pityriasis folliculorum, et aura probablement inclus des patients atteints de pityriasis folliculorum parmi ses témoins (§ 1.5.).

Dès lors, nous avons voulu publier rapidement un commentaire remettant en question leur proposition de classification, qui nous paraît être plus une source de confusion qu'une aide pour les dermatologues. Nous devons défendre le terme de pityriasis folliculorum, qui commençait enfin à être connu, et la conception uniciste de la maladie. Nous devons également corriger les informations contenues dans leur publication concernant notre travail. Nous avons donc discuté la classification proposée par Chen et Plewig dans le cadre des connaissances actuelles, et en avons suggéré une autre, basée sur des critères descriptifs et des hypothèses pathophysiologiques claires, afin d'aider les dermatologues dans leur pratique quotidienne. Cet article nous a donné l'occasion de proposer une idée originale qui répond à un des arguments des détracteurs du rôle du Demodex dans la rosacée (« beaucoup de patients ont une haute densité en parasite sans avoir de RPP ») : un schéma physiopathogénique centré sur la prolifération du parasite, qui, par **l'équilibre de ses 2 actions opposées sur l'immunité**, détermine l'effet inflammatoire ou non inflammatoire des symptômes.

Riehl's melanosis, melasma and post-inflammatory hyperpigmentation.^{1,4,5} Finally, if ADM presented only localized to the nose, the main differential diagnosis to exclude would be melanoma. In this case, the lesion is not symmetrical, with irregular borders and pigmentation. Dermoscopy and histological examination should be performed if there is any doubt.

In Asians, localization of ADM on the nose is not rare. Murakami *et al.*⁶ recorded ADM located on the nose in 21 out of 69 (30.4%) of their patients. However, to our knowledge, localized ADM of the nose has not been published yet in the literature. We hope that reporting this unique clinical phenotype of ADM will be of educational value to increase awareness of such presentation and offer possible options of management for the patients.

S.Y. Chuah,¹ H. Hammami Ghorbel,² J.-P. Lacour,³
T. Passeron^{3,4,*}

¹Department of Dermatology, National Skin Centre, Singapore, Singapore, ²Dermatology Department, Habib Thameur Hospital, Tunis, Tunisia, ³Department of Dermatology, University Hospital of Nice, Nice, France, ⁴INSERM U1065 team 12, C3M Nice, France

*Correspondence: T. Passeron. E-mail: passeron@unice.fr

References

- 1 Mataix J, López N, Haro R *et al.* Late-onset Ito's nevus: an uncommon acquired dermal melanocytosis. *J Cutan Pathol* 2007; **34**: 640–643.
- 2 Hidano A, Kaneko K. Acquired dermal melanocytosis of the face and extremities. *Br J Dermatol* 1991; **124**: 96–99.
- 3 Hori Y, Kawashima M, Oohara K, Kukita A. Acquired, bilateral nevus of Ota-like macules. *J Am Acad Dermatol* 1984; **10**: 961–964.
- 4 Kawakami T, Saito C, Soma Y. Acquired dermal melanocytosis naevus of Ota-like macules on the face and extremities lesions in a young Japanese woman. *Acta Derm Venereol* 2009; **89**: 415–416.
- 5 Park JH, Lee MH. Acquired, bilateral nevus of Ota-like macules (AB-NOM) associated with Ota's nevus: case report. *J Korean Med Sci* 2004; **19**: 616–618.
- 6 Murakami F, Soma Y, Mizoguchi M. Acquired symmetrical dermal melanocytosis (naevus ofHori) developing after aggravated atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2005; **152**: 903–908.

DOI: 10.1111/jdv.12436

Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed

Editor

In a recent paper, Chen and Plewig¹ revisited and proposed a new classification of Human Demodicosis. Our previous research^{2–4} leads us to entirely approve their recognizing

Demodicosis as a disease per se, but also to react to the proposed classification.

Chen and Plewig underlined that the critical point concerning the pathophysiology of Demodicosis is Pityriasis folliculorum (PF)^{5,6} (Fig. 1) and its transition to an inflammatory state, agreeing there with our own idea.³ Indeed, one of us suggested that an immune defect against *Demodex*⁷ (D), or other potential favouring factor, allows initially its proliferation, corresponding to PF; in a second stage, possibly when some mites penetrate the dermis, the immune system is suddenly stimulated which gives rise to an exaggerated immune response towards the *Demodex*, resulting in the papules and the pustules of Rosacea.³

But, contrary to us, Chen and Plewig do not consider Papulopustular Rosacea (PPR) as Demodicosis, because, in spite of all studies and indirect arguments supporting this hypothesis,^{2–4,8,9} the direct relationship has not yet been proved.^{1,3}

They propose a classification using 'primary' and 'secondary' Demodicosis, and define primary Demodicosis by first excluding patients with inflammatory symptoms:¹ this could mean that they altogether reject the idea that *Demodex* can per se induce inflammation, in spite of previous publications supporting this fact.^{2–4,6–8}

This also could suggest that primary Demodicosis appears per se, and that secondary Demodicosis is secondary to another dermatosis (as 'acne, rosacea, perioral dermatitis').

In daily practice, we observe both patients with only Demodicosis and patients with Demodicosis AND another facial dermatosis (as acne, seborrhoeic dermatitis or other). When a patient presents two or three dermatoses simultaneously, the different diseases can be independent from each other, related by a common favourable ground, or related by a causal relationship. The nature of this association has never been studied concerning Demodicosis: consequently nothing allows us to affirm that one pathology is secondary to the other. Therefore, an objective classification, consistent with our present knowledge, should avoid the terms 'primary' or 'secondary', and use rather for example 'non-inflammatory' and 'inflammatory Demodicosis' (Fig. 2), and 'isolated' or 'associated' to another dermatosis.

When Demodicosis is associated to acne or seborrhoeic dermatitis, the most probable explanation seems that these three dermatoses are favoured by a common hyper seborrhoeic ground, but, of course, studies are required to confirm this hypothesis.

When high *Demodex* density (Dd) is observed in PPR, the condition is different because almost all PPR were demonstrated to have high Dd (the other being probably false negative results),^{2,4,8} and many other arguments and studies support its role in PPR.^{3,9}

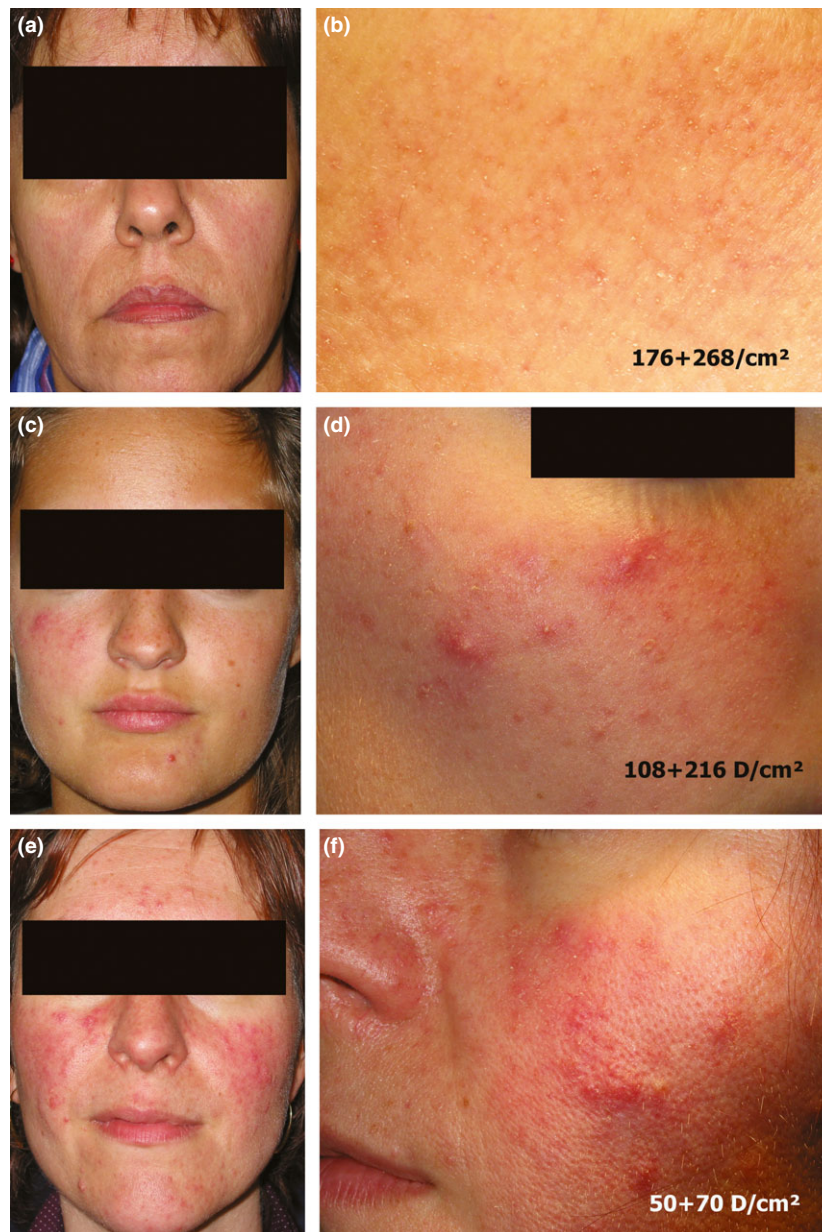


Figure 1 (a, b) Pityriasis folliculorum (PF) can be very discreet. (c, d) Rosacea-like Demodicosis (RLD) and (e, f) typical Papulopustular Rosacea (PPR) are probably two clinical variants of one single entity. For each patient, the diagnosis was confirmed by Standardized Skin Surface Biopsy: the skin and the slide were cleaned with ether and two successive samplings were performed at the same place. The respective values are indicated in the figures. (a, b) Face and right cheek of a 49-year-old woman presenting a discreet PF for 10 years. She consulted three dermatologists who did not know what she had. From a distance, her skin appeared normal, though greasy with dilated follicular orifices. But on close examination, white follicular scales, surrounded by slight perifollicular redness, were observed. (c, d) Face and right cheek of a 19-year-old woman presenting a RLD: unilateral distribution of very small superficial papulopustules associated with follicular scales, without important vascular symptoms (discreet flushes). A very high Dd was observed on her right cheek, with papulopustules, and lower Dd ($12+20$ D/cm²) on her left cheek which appeared clinically as healthy skin. No comedones were observed. (e, f) Face and left cheek of a 36-year-old woman presenting a typical PPR with large papulopustules, follicular scales, flushes and telangiectasia.

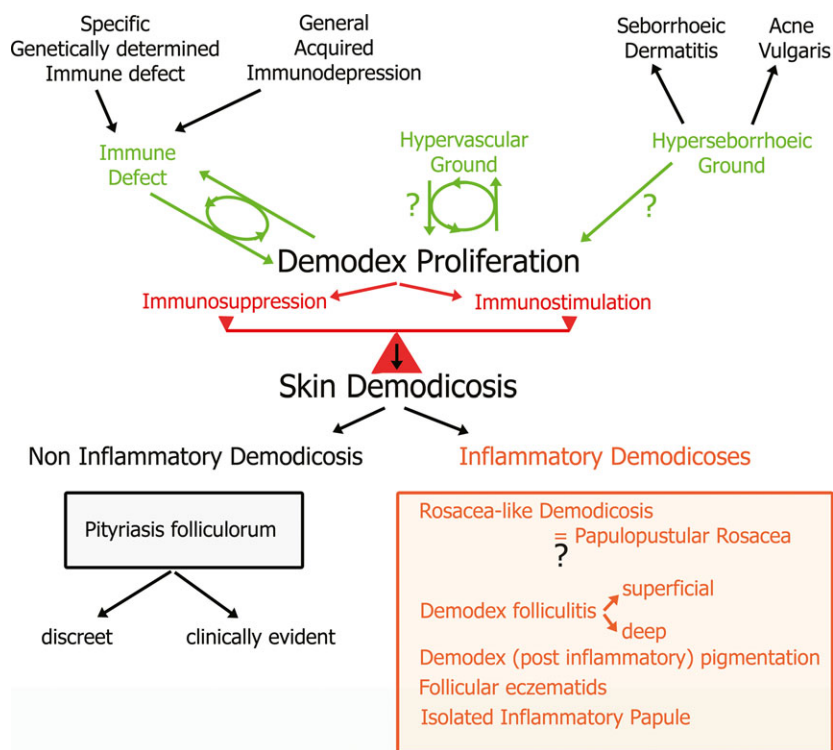


Figure 2 Demodicosis and Rosacea: Pathophysiological hypothesis with (1) the different ways the disease can begin (probable favouring factors in green), **(2) multiple probable vicious cycles** (green circles), **(3) balance between two opposite actions of Demodex on immune system** (red balance) and **(4) an alternative proposition for classification of Demodicosis**. D probably has two opposite influences on the immune system: (1) on the one hand, D probably secretes a local immunosuppressive factor,⁷ which allows it to proliferate considerably without being rejected (as most parasites do); (2) on the other hand, as attacker feeding on human cells, it is responsible for a permanent micro-abrasion of the epithelium and so, stimulates the immune system.³ The balance between these opposite actions probably determines the clinical symptoms of a high Dd: if the immunosuppressive action predominates, PF occurs;^{3,5,6} if the immunostimulation surpasses the local immunosuppressive action, other demodicoses occur.³

Some dermatologists recognize its role in 'Rosacea-like Demodicosis' (RLD), but not in PPR, whereas others underline the confusion between the two diagnostics.¹⁰ We think that these are two clinical variants of a same entity (Fig. 1), and that both the clinical variations and the confusion are caused by the different ways the disease can begin (Fig. 2).

The normal threshold of ≤ 5 D/cm² by Standardized Skin Surface Biopsy (SSSB),⁴ is queried by Chen and Plewig; this threshold is, however, compatible with five other controlled studies.² Moreover, several of us have been using it daily with great success since 1993.

Chen and Plewig underline, rightly, that the current terminology describing Demodicosis is unspecific and confusing;¹ multiplying the terms must thus be avoided. But they propose changing the name of 'Pityriasis Folliculorum' to 'spinulate Demodicosis', with which we don't agree: (i) the term PF is as explicit as their proposition; (ii) keeping the term PF is recognition for Ayres who gave the name to the pathology he first

described in 1930.^{5,6} it would be a pity that just when the entity begins to be better recognized, he should be forgotten; (iii) change increases confusion (some could think it a new Demodicosis), and makes it more difficult to find past publications using the term 'PF'.

In conclusion, we propose:

- 1 defining Demodicosis by (non-specific) suggestive symptoms (follicular scales, redness, sensitive skin, pruritus, perifollicular macules or papules, atypical eczematiform eruption, folliculitis, isolated inflammatory papule, pigmentation...)^{2,5,6} confirmed by an abnormally high Dd (>5 D/cm² by SSSB, or other cut-off value by other sampling methods);^{2,4} the diagnosis being again confirmed by the clinical cure using pure acaricidal treatment, concomitantly with normalization of Dd;³
- 2 choosing a descriptive classification: 'non-inflammatory' and 'inflammatory Demodicosis';
- 3 keeping the term Pityriasis Folliculorum (not replacing it by 'Spinulate Demodicosis');

- 4 considering that Demodicosis can occur alone, and is therefore 'isolated' or concomitant with another dermatosis, and is therefore 'associated' with this dermatosis (without any notion of causal relationship);
- 5 considering the inclusion of PPR in Demodicosis as a separate question, which should at least remain open.

Publishable disclosure statement

Contents of the manuscript have not been previously published and are not currently submitted elsewhere.

F.M. Forton,^{1,*} M.-A.E. Germaux,² S. C. Thibaut,¹
J.-J.A. Stene,^{1,3} T.V. Brasseur,¹ C. L. Mathys,¹
M.D. Tytgat,¹ M.F. Laporte⁴

¹ Dermatology (Private Practice), ²Dermatology, Institut Medical Edith Cavell, ³Dermatology, C.H.U St-Pierre, ⁴Dermatology, Clinique du Parc Léopold, Brussels, Belgium

*Correspondence: F.M. Forton. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

- 3 Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: Pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**: 19–28.
- 4 Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control-study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 5 Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Dermatology Syphilology* 1930; **21**: 19–24.
- 6 Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816–827.
- 7 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**: 440–444.
- 8 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- 9 Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol* 2014; doi: 10.1111/bjd.13408.
- 10 Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; **133**: 294–299.

DOI: 10.1111/jdv.12926

References

- 1 Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 1219–1225.
- 2 Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.

3.12. 2018 : Commentaire de la 1ère étude expérimentale⁵⁶¹

Suite à notre travail de reviewer concernant la première et remarquable étude expérimentale in vitro réalisée en Irlande par Lacey *et al.*,⁸⁵ l'éditeur du BJD nous a demandé d'écrire un commentaire au sujet de l'article (Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. Br J Dermatol 2018 ;179: 420-430).

Dans cette étude, Lacey *et al.* ont extrait les *D folliculorum* de la peau humaine, en utilisant une technique de SSSB modifiée⁶⁹ et en prélevant ensuite les parasites à la pince ; ils les ont déposés dans un milieu de survie constitué de sébocytes humains, et ont étudié les médiateurs inflammatoires du surnageant et les expressions des gènes des sébocytes suite à leur contact avec différentes quantités de Demodex. Ils ont observé que les Demodex vivants, quand ils étaient en petit nombre, en co-culture avec les sébocytes humains, diminuaient l'expression des récepteurs type Toll par les sébocytes. Et au contraire, quand ils étaient présents en grand nombre, les Demodex activaient une réponse pro-inflammatoire, avec IL-8 et IL-12, tout en augmentant aussi la sécrétion d'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire), probablement pour favoriser leur propre survie.⁸⁵

Cette étude confirme donc nos hypothèses publiées précédemment, d'une double action des parasites sur l'immunité de l'hôte.^{111,205} Mais étant donné que le *D folliculorum* est, in vivo, essentiellement en contact avec des kératinocytes et non avec des sébocytes (à part pour le *D brevis* et le phénotype court du *D folliculorum*), les observations faites seront peut-être à moduler.

Elucidating the role of *Demodex folliculorum* in the pathogenesis of rosacea: exciting first steps...

DOI: 10.1111/bjd.16792

Linked Article: Lacey et al. *Br J Dermatol* 2018; doi: 10.1111/bjd.16540

The role of *Demodex* mites in rosacea remains controversial, largely because it is impossible to establish the pathogenicity of *Demodex* using the Koch postulates. Indeed, as an obligate parasite, *Demodex* cannot be grown *in vitro*. And even if this were possible, the massive experimental inoculation needed to induce rosacea would be difficult to achieve because *Demodex* already parasitizes healthy skin. Moreover, very high densities of the mite can be present without any significant inflammation (in pityriasis folliculorum). As a result of these challenges, the potential role of *Demodex* in rosacea has only been explored through observational studies.^{1,2}

However, in 2015, Lacey et al. succeeded in circumventing the problem of cultivation by developing a method by which *Demodex* mites could be collected and kept viable *ex vivo*: the modified standardized skin surface biopsy.³ Using this technique, the same group of investigators conducted an experimental study to explore the impact of *Demodex* on human cells *in vitro*. The results of this exciting study are reported in this issue of the *British Journal of Dermatology*.⁴

Lacey et al. show that live *Demodex* mites co-cultured with human sebocytes downregulate the Toll-like receptor 2 (TLR2) immune response when present in small numbers, but when increased numbers of *Demodex* mites are present, a proinflammatory response is activated.⁴ The authors thus suggest that, in low numbers in normal skin, *Demodex* mites may downregulate the host immune TLR signalling pathway to facilitate their survival, whereas increased numbers of *Demodex* mites may trigger a host immune reaction by activation of the TLR2 pathway, leading to the inflammatory skin changes typical of rosacea.⁴ These results thus confirm the hypothesis generated by the observational data, notably that *Demodex* mites can both suppress and enhance the host immune response.^{5–7}

Interestingly, although not specifically examined in this study, the initial immunosuppressive action of the parasite may explain why, in pityriasis folliculorum, the most frequent demodicosis and, in my opinion, the precursor of rosacea, there is almost no inflammatory reaction, despite the presence of numerous mites.^{5,8} Indeed, the skin *Demodex* density in pityriasis folliculorum is similar to that observed in papulopustular rosacea:⁸ using the sum of *Demodex* densities obtained from two consecutive standardized skin surface biopsies performed at the same site, we observed a mean total *Demodex* density (Dd) of 285 ± 12 Dd cm^{-2} among 445 patients with pityriasis folliculorum

(unpublished data) and 284 ± 17 Dd cm^{-2} among 254 patients with rosacea.⁹

The interesting results of the study by Lacey et al.⁴ raise many questions. For example, what triggers the switch from the initial immunosuppressive effect to one of immunostimulation *in vivo*? Does the presence of excessive mites lead some to penetrate the dermis and stimulate the immune response?⁵ What are the effects of *Demodex folliculorum* on other cell types, such as keratinocytes, which are the main cells in contact with the mites inside the follicles, or immune cells present in the dermis? *Staphylococcus epidermidis*, for example, has anti-inflammatory actions on keratinocytes, but proinflammatory effects on immune cells.¹⁰

These first experimental results⁴ thus pave the way for more research on the role of the *Demodex* mite in rosacea and demodicosis, which may ultimately lead to better patient management.

Acknowledgments

I thank Dr K Pickett for proofreading and for her constructive remarks.

Conflicts of interest

F.M.N.F. occasionally works as a consultant for Galderma.

Dermatology Clinic, rue Frans Binjé 8,
Brussels, Belgium

E-mail: fabienne.forton@skynet.be

F.M.N. FORTON 

References

- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**:443–8.
- Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**:650–9.
- Lacey N, Russell-Hallinan A, Powell FC. Study of *Demodex* mites: challenges and Solutions. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**:764–5.
- Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. *Demodex* mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018; doi: 10.1111/bjd.16540
- Forton FMN. Papulopustular rosacea, skin immunity and *Demodex*: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Derma Venereol* 2012; **26**:19–28.
- Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC et al. Demodicosis: descriptive classification and status of rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**:829–32.
- Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018. <https://doi.org/10.1111/jdv.14885>
- Forton F, Germaux MA, Brasseur T et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**:74–87.
- Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate *Demodex* density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**:242–8.
- Lai Y, Di Nardo A, Nakatsuji T et al. Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *J Nat Med* 2009; **15**:1377–82.

4) ETUDE GLOBALE RÉTROSPECTIVE

Parallèlement à la publication des articles précédents, nous avons, pendant 8 ans, collecté une série de données au cours de notre pratique dermatologique en vie réelle, et les avons ensuite analysées rétrospectivement.

4.1. MATERIEL & METHODES

4.1.1. Etude

Cette étude a reçu l'approbation du comité d'Éthique de l'Hôpital Erasme le 18/03/2014 (P 2014/117). La collecte des données s'est étalée de 2002 à 2010 pour l'inclusion de nouveaux patients et jusqu' à 2016 pour leur suivi.

L'évolution des patients comprend parfois plusieurs rechutes de la maladie, chaque rechute avec ses différentes visites de suivi étant considérée comme un "épisode" de la maladie. **Le travail effectué jusqu'à présent concerne l'analyse des données au J0 et celles du premier épisode de la maladie**, le premier épisode se terminant lors de la dernière consultation du patient pour ce problème, avant qu'il ne revienne éventuellement pour une récurrence.

Au fil du temps, l'importance de certains symptômes, insoupçonnés au départ, est apparue (l'atteinte du cuir chevelu, le prurit) et les traitements se sont améliorés, en les adaptant progressivement, pour essayer de les rendre plus performants, plus efficaces et mieux tolérés.

Pour étayer le rôle du parasite dans la RPP, **nous avons d'emblée analysé toutes les dermatoses que nous, nous considérons causées par le Demodex** : les démodécies reconnues par l'opinion générale, et toutes les dermatoses avec papulopustules centrofaciales évoquant le diagnostic de RPP, appelées « PPR-suggestive ». Nous voulions en effet tester l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence essentielle entre les groupes « démodécies » et « PPR-suggestive », ni, au sein des « PPR-suggestive », entre les patients avec et sans érythème persistant. Les petites différences, aisément explicables, permettraient de considérer ces groupes diagnostics comme différents phénotypes d'une seule et même maladie.

4.1.2. Patients

4.1.2.1. **Critères d'inclusion**

Parmi les patients s'étant présentés à notre consultation privée de dermatologie à Bruxelles entre le 19 février 2002 et le 31 décembre 2010, ont été inclus :

- **Tous les patients avec symptômes cliniques et signes évocateurs de RPP ou de démodécie** ; chez ces patients, la mesure de la densité en Demodex au moyen de 2 SSSBs successives est systématique dans notre cabinet ;

- **Les autres patients** (ceux atteints de RET, d'autres dermatoses faciales et les patients avec la peau saine), chez qui nous ne pratiquons pas cette mesure systématiquement, n'ont été inclus qu'exceptionnellement, c'est-à-dire seulement **quand le timing de la consultation le permettait** (Fig. 79).

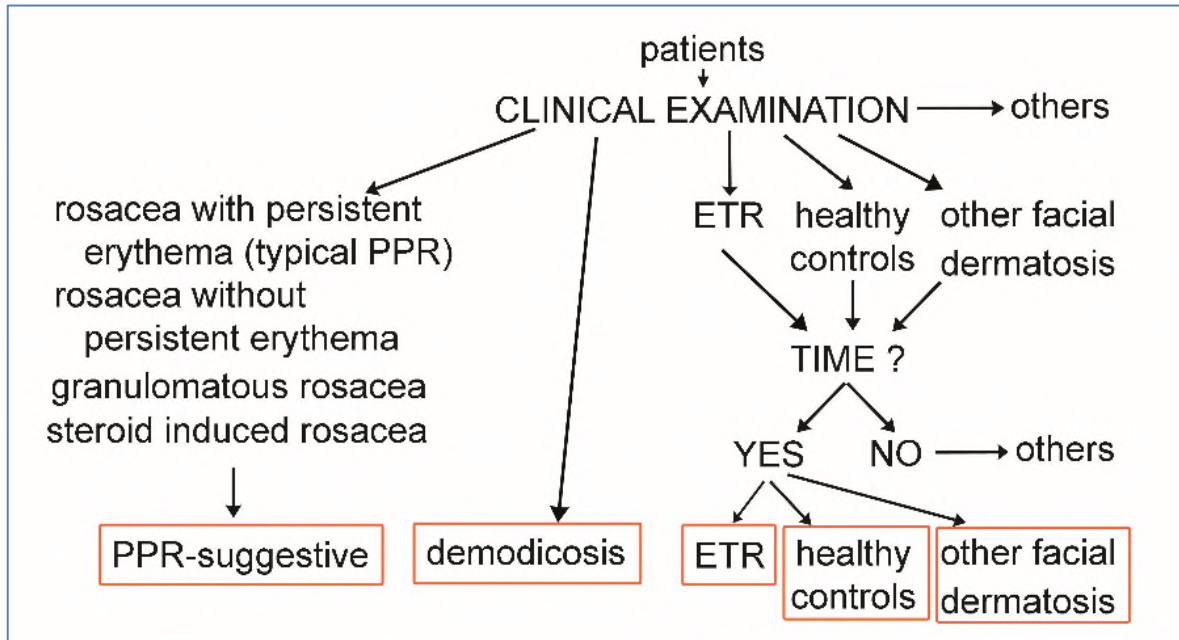


Fig. 79. Diagramme dynamique exposant **l'inclusion des patients en fonction du diagnostic clinique et du temps disponible** pour inclure les patients atteints de RET, les contrôles sains et les patients atteints d'autres dermatoses faciales.

4.1.2.2. Critères d'exclusion

4.1.2.2. A. Dès le départ, ont été exclus :

1. Les patients pour lesquels le diagnostic clinique était incertain : comme les patients ont été catégorisés uniquement sur base de la clinique, le diagnostic clinique devait être certain. Quand ce n'était pas le cas, quand il subsistait un doute quant au diagnostic clinique (par exemple, si nous hésitions entre les diagnostics de démodécie ou de dermite séborrhéique), le patient était exclu ;
2. Les jeunes enfants de moins de 7 ans ;
3. Les patients qui avaient déjà été traités pour démodécie ou rosacée par acaricide dans notre cabinet et qui revenaient pour leur suivi. Par contre, les patients qui avaient déjà été traités par d'autres dermatologues ont été inclus, car en général à cette époque, ceux-ci ne prescrivaient pas de traitement acaricide, du moins de façon efficace... puisque les patients arrivaient chez nous ;
4. Les patients chez qui une seule SSSB seulement a pu être faite (au vu d'une irritation trop importante due à celle-ci).

4.1.2.2. B. Pour les 2 analyses de follow-up (§ 4.2.8.),^{562,563} ont été exclus en sus :

1. Les patients atteints de RET, d'autres dermatoses faciales et les contrôles sains ;
2. Les patients atteints de démodécie ou de PPR-suggestive qui présentaient également d'autres dermatoses faciales associées,
3. Les patients ayant reçu un traitement anti-inflammatoire en plus du traitement acaricide ;
4. Ceux qui ne sont pas revenus en consultation ;
5. Ceux qui ont été traités par un autre acaricide que la crème au benzoate de benzyle, car ils formaient des groupes trop peu représentés ;
6. Ceux dont la densité en Demodex était normale au jour 0, car leur diminution de Dd n'était dès lors pas mesurable ;
7. Ceux qui n'avaient subi qu'une seule SSSB en cours de suivi ;
8. Ceux pour qui l'emplacement de la SSSB avait changé au cours du suivi en incluant le nez (où la Dd mesurée s'est révélée plus basse au J0 : ceci pouvait donc influencer l'évolution des valeurs) ;
9. Ceux qui n'avaient qu'une atteinte oculaire isolée (sans atteinte faciale clinique).

4.1.2.2. C. En ce qui concerne l'analyse du premier épisode en entier (§ 4.2.8.2),⁵⁶³ nous avons exclu en sus les patients chez qui le traitement avait été modifié au cours du follow-up de telle façon qu'ils avaient changé de groupe thérapeutique au cours de leur premier épisode (« low dose » vers « high dose » ou l'inverse (§ 4.1.2.3. F.)).

4.1.2.3. Groupes et sous-groupes

4.1.2.3. A. Cinq groupes diagnostiques principaux

Les patients ont été inclus dans les 5 différents groupes diagnostiques sur base des signes et symptômes cliniques observés au "jour 0" (Fig. 79) :

1) « PPR-suggestive » : ce terme un peu étrange a été choisi pour respecter la définition actuelle de la rosacée et la controverse nosologique concernant les patients présentant des papulopustules centrofaciales évoquant le diagnostic de RPP, mais sans érythème facial persistant. Suivant le 1^o consensus, ils ont une rosacée, mais pas le sous-type II, et suivant le 2^o consensus, ils n'ont même plus une rosacée (§ 1.4.3). Donc, si nous voulions garder ces patients dans notre groupe, nous ne pouvions plus appeler ce groupe « RPP » et l'avons baptisé dès lors « PPR-suggestive ». Nous l'avons ensuite subdivisé en patients présentant une **RPP typique** suivant le consensus actuel (c.-à-d. des papulopustules centrofaciales avec érythème persistant) et ceux présentant d'autres formes de papulopustules suggérant une rosacée :

papulopustules centrofaciales sans érythème persistant, rosacée granulomateuse, rosacée stéroïdienne.

2) Démodécie : le diagnostic de démodécie a été posé sur la base de la présence combinée de signes et symptômes évocateurs du diagnostic (§ 1.3.1 et 1.3.3.) : écailles folliculaires, folliculite, pigmentation, prurit, etc. Elle ne comprend pas la démodécie pseudo-rosacée car ces patients présentent des papulopustules centrofaciales et ont été inclus dans le groupe des « PPR-suggestive ».

3) Rosacée Erythématotélangiectasique (RET) : le diagnostic de RET a été donné en présence de bouffées vasomotrices, télangiectasies et/ou érythème persistant. Ces patients ont été soigneusement sélectionnés pour éviter d'inclure des patients atteints de pityriasis folliculorum : ils n'avaient pas d'écailles folliculaires visibles, même après nettoyage de la peau avec de l'éther.

4) Contrôles sains : ces patients ont été soigneusement sélectionnés pour éviter d'inclure des patients avec un pityriasis folliculorum ou une RET. Ils n'avaient donc ni écailles folliculaires visibles (même après nettoyage de la peau avec de l'éther), ni aucune plainte subjective suggérant une démodécie ou une RET. Mais les patients présentant un léger érythème entre l'élastose actinique, ou seulement quelques télangiectasies très discrètes, ont été inclus dans ce groupe sinon nous n'aurions pas, ou quasi pas, de patients de plus de 30- 40 ans. Ces patients sont soit des accompagnants d'autres patients venus en consultation, soit ils sont venus nous consulter pour une affection dermatologique totalement indépendante telle que, par exemple, une verrue plantaire.

5) Autres dermatoses faciales : ces patients présentaient une ou plusieurs dermatoses faciales autres qu'une démodécie clinique, une « PPR-suggestive » ou une RET.

4.1.2.3. B. Six sous-groupes de démodécie

Les démodécies sont composées de 6 sous-groupes qui s'excluent mutuellement : chaque patient n'appartient qu'à un seul sous-groupe, attribué selon le symptôme le plus intense. En effet, la plupart des patients ont des écailles folliculaires et ont donc un pityriasis folliculorum clinique, mais s'ils ont autre chose en plus, ils sont classés dans un autre sous-groupe. Les 6 sous-groupes de démodécie sont :

- 1) **Pityriasis folliculorum** (§ 1.3.1.1., Fig. 32) : ces patients n'ont que des écailles folliculaires à la base des poils « vellus », avec ou sans symptômes vasculaires, mais sans autre symptôme visible de démodécie ;
- 2) **Eczématides folliculaires** (§ 1.3.1.8., Fig. 44) : peau légèrement bosselée, en « peau d'orange », pores dilatés, squameuse, avec érythème périfolliculaire, évoquant une peau irritée, eczéma-like, avec ou sans pityriasis folliculorum ;
- 3) **Folliculite** (§ 1.3.1.4., Fig. 40) ;

- 4) **Pigmentation post-inflammatoire** (§ 1.3.1.6., Fig. 42) ;
- 5) **Papule inflammatoire isolée** (§ 1.3.1.7., Fig. 43) : bien qu'elle soit en elle-même aspécifique, cette papule, associée à un pityriasis folliculorum ou à des signes subjectifs suggérant une démodécie, permet de poser raisonnablement le diagnostic de démodécie. Parce que notre étude est observationnelle et se déroule en cabinet privé, et parce que la biopsie classique n'est pas du tout nécessaire au diagnostic, nous n'avons pas fait de biopsie classique invasive afin de confirmer le diagnostic ;
- 6) **Démodécie oculaire isolée** (§ 1.3.1.3., Figs. 38 et 39) : l'atteinte oculaire est isolée, sans démodécie clinique de la peau du reste du visage.

4.1.2.3. C. "Demodex+" et "Demodex-" pour le test diagnostique

Dans un second temps, après obtention et analyse des densités Demodex (§ 4.2.2.), **dans le but d'identifier les valeurs optimales des cut-offs pour différencier les densités en Demodex normales et anormales, nous avons opposé 2 groupes** (§ 4.2.3.) : "Demodex+", rassemblant les groupes cliniques avec haute densité moyenne en Demodex (les PPR-suggestive et les démodécies), et "Demodex-", rassemblant les groupes avec faible densité moyenne en Demodex (les contrôles sains et les patients atteints d'autres dermatoses du visage) (Fig. 80).

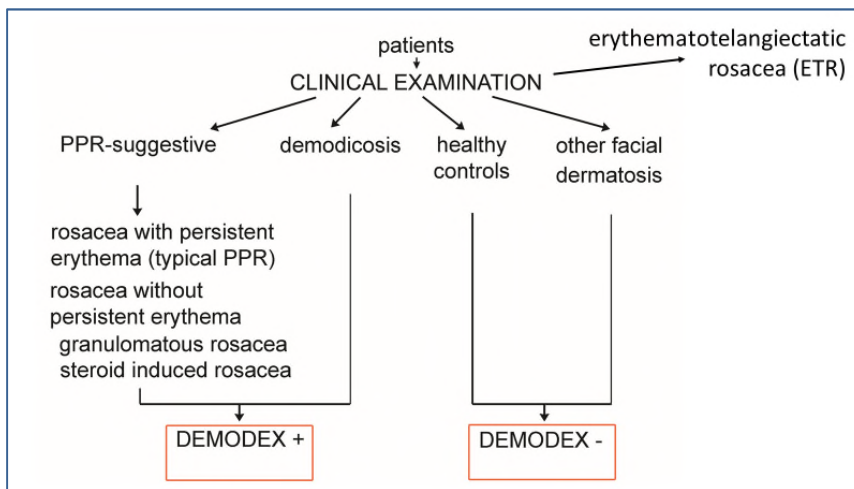


Fig. 80. Dans un premier temps, les patients ont été sélectionnés et groupés en fonction du diagnostic clinique (voir Fig. 79). Et dans un deuxième temps, ces groupes diagnostiques ont été rassemblés en fonction de leurs

densités moyennes en Demodex, hautes ou basses (§ 4.2.2.). Le groupe des RETs, qui s'était révélé de densité moyenne intermédiaire, n'a pas été pris en compte pour la constitution des groupes des densités extrêmes "Demodex+" et "Demodex-".

4.1.2.3. D. Sous-groupe A pour l'atteinte du cuir chevelu

Au début de la collecte des données, en 2002, l'importance de l'atteinte du cuir chevelu (prurit, folliculite du cuir chevelu ou pellicules), en particulier dans la rosacée, n'était pas connue et n'a donc pas été spécialement recherchée chez ces patients. Mais petit à petit, nous avons commencé à suspecter l'importance de cette atteinte et, à partir d'août 2005, nous l'avons recherchée systématiquement ; nous avons donc

analysé les patients inclus à partir de cette époque séparément dans un « sous-groupe A » (Fig. 81).

4.1.2.3. E. Sous-groupe B pour les symptômes

Afin de limiter l'effet des facteurs confondants susceptibles d'influencer les symptômes cutanés du visage, nous avons également étudié ces symptômes dans un groupe de patients (sous-groupe B) qui n'avaient reçu aucun traitement au cours des 3 mois précédents et qui n'avaient aucune autre dermatose faciale associée (Fig. 81).

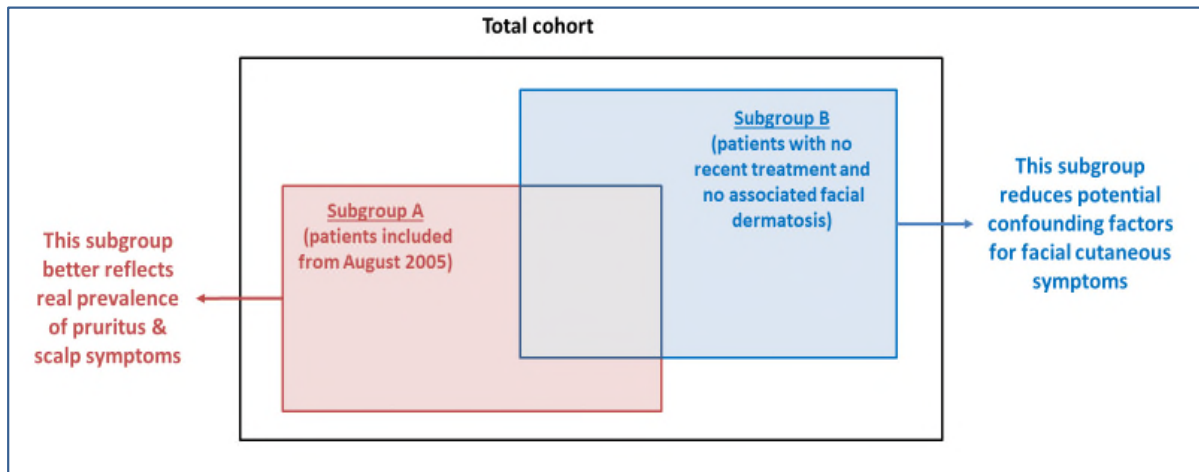


Fig. 81. Création des sous-groupes A et B de patients, adaptés aux données analysées, afin de rendre les analyses les plus pertinentes possibles.

4.1.2.3. F. Sous-groupes thérapeutiques

Les patients atteints de démodécie ou de PPR-suggestive, sans autre dermatose faciale associée, traités par une crème au benzoate de benzyle (BB) sans traitement anti-inflammatoire associé et étant revenus en consultation ont été analysés quant à leur évolution sous traitement. Au cours de la période d'étude (2002-2016), les dosages de la crème au BB et les méthodes d'application ont été modifiés pour essayer d'améliorer la tolérance et l'efficacité, donnant lieu à trois sous-groupes thérapeutiques :

1. **BB 12% 1x/j** : une crème composée de 10% de crotamiton appliquée le matin et une autre composée de 12% de BB (avec 10% de crotamiton) appliquée le soir. Différents excipients ont été utilisés dont le gel carbopol, la crème cétylique (sulfate de laurylsulfate de sodium 1,5 g, alcool cétylique 15 g, glycérine 10 g, eau 73,5 g), l'hydratant cosmétique (Immulia ®laboratoire Lutsine) et la crème cétomacrogol FTM (formulaire thérapeutique magistral).
2. **BB 12% 2x/j** : une crème unique composée de 12% de BB appliquée le matin et le soir (avec 10% de crotamiton, dans une crème cétomacrogol FTM).
3. **BB 20% 1x/j** : une crème hydratante le matin et une crème composée de 20 à 24% de BB appliquée le soir (avec 10% de crotamiton dans une crème cétomacrogol FTM).

Une première analyse a été effectuée sur les deux premières consultations en incluant les patients avec bonne et mauvaise compliance.

Une seconde analyse a été effectuée sur le premier épisode entier de la maladie, en analysant séparément les patients avec bonne et mauvaise compliance. Dans cette seconde analyse, les patients traités par BB12% 2X/j et ceux traités par BB20% 1X/j ont été rassemblés dans un seul **groupe « high dose », et opposés au groupe « low dose »** de BB 12% 1x/j. Cela nous permettait à la fois d'avoir des groupes plus importants à comparer et de garder pour l'analyse les patients qui, ayant vécu en direct l'évolution des traitements, avaient été traités par BB 12% 2x/j au début de leur prise en charge et ensuite par BB 20% 1X/j. La **comparaison** entre les groupes high- et low- doses n'a été effectuée **que pour les patients présentant une bonne compliance.**

4.1.2.4. Sélection des groupes selon les études réalisées

Les groupes diagnostics de patients ont été choisis en fonction des analyses à effectuer dans les différents articles (Fig. 82) :

- Pour le test diagnostic²¹² (§ 4.2.2. et 4.2.3.) et les influences (§ 4.2.7.), ont été inclus tous les groupes sauf le groupe des patients avec RET ;
- Pour les symptômes cliniques⁵⁶⁴ (§ 4.2.4.) et le suivi du traitement^{562,563} (§ 4.2.8.), deux groupes ont été inclus : ceux avec démodicie et ceux avec PPR-suggestive ;
- Pour la comparaison entre la démodicie pseudo-rosacée et la RPP (une seule maladie ?)¹⁶¹ (§ 4.2.5.), uniquement 2 sous-groupes du groupe PPR-suggestive ont été inclus : ceux avec et sans érythème persistant;
- Pour les démodies subcliniques⁵⁶⁵ (§ 4.2.6.), tous les groupes ont été inclus.

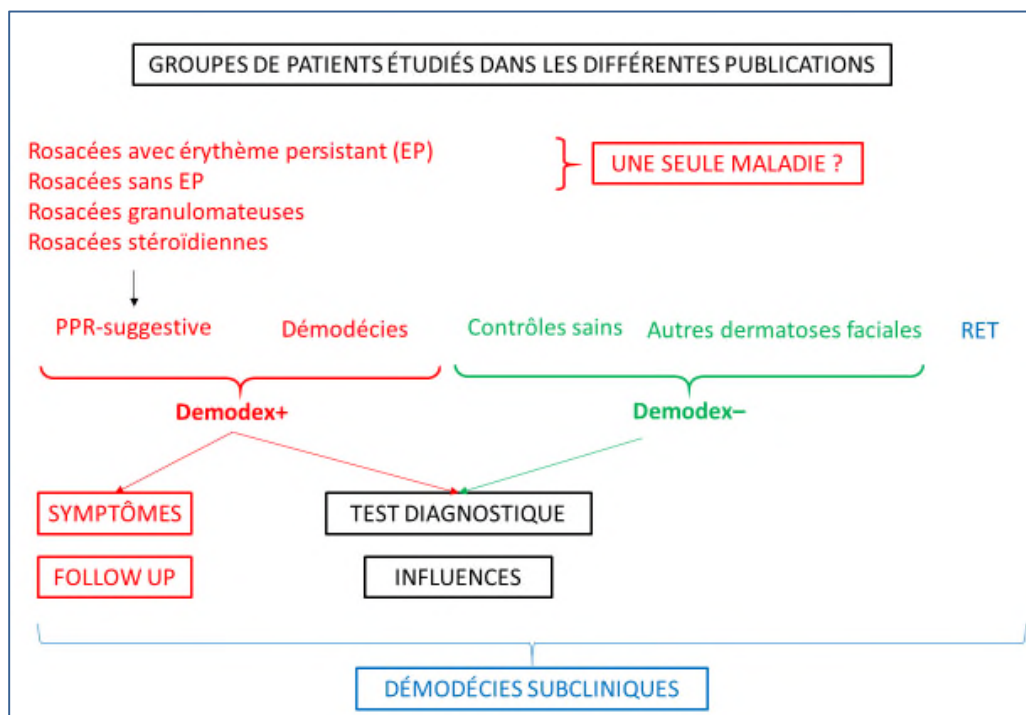


Fig. 82. Groupes et sous-groupes analysés dans les différents articles.

4.1.3. Données collectées

Pour chaque patient, lors de la première consultation (jour 0), ont été enregistrés : la date de consultation, la date de naissance, le sexe, le diagnostic clinique, l'usage régulier de savon et de cosmétiques (maquillage, crèmes hydratantes/anti-rides/anti-rougeurs, ...), emplacement des SSSBs et les valeurs des densités en Demodex.

Pour les patients atteints de démodécie et les patients avec PPR-suggestive, ont également été enregistrés :

- 1) La durée de la dermatose avant le jour de la première consultation ;
- 2) Les symptômes présents au "jour 0" tels qu'ils apparaissaient : flushs, érythème persistant, érythème folliculaire, écailles folliculaires, papulo-pustules, ainsi que leur taille/profondeur (« petite ($\leq 1\text{mm}$) et superficielle » ou « grosse et plus profonde »), eczématides folliculaires, pigmentation, prurit ; si des papules étaient signalées par le patient mais n'étaient pas observées au jour 0, elles n'ont pas été considérées ;
- 3) L'éventuelle atteinte oculaire (squames cylindriques à la base des cils, blépharite, conjonctivite, chalazion) ;
- 4) Les autres dermatoses faciales potentiellement associées (comme la dermatite séborrhéique ou l'acné vulgaire) ; celles-ci ont été considérées même si elles ne devenaient visibles que lors du suivi, car elles sont supposées avoir été potentiellement masquées par la démodécie ou rosacée dans un premier temps ;
- 5) Tous les traitements (locaux ou per os) reçus antérieurement au J0 pour la dermatose faciale, avec notification de ceux qui ont été reçus récemment (dans les 3 derniers mois). Notons que parmi ces traitements antérieurs, certains n'ont pas été pris en considération : crèmes cosmétiques (même contre la rosacée), huiles essentielles, plantes chinoises, homéopathie, collyre et shampooings utilisés sur le cuir chevelu (même contre les pellicules, parce que les SSSBs ont été faites sur la peau du visage) ;
- 6) Les traitements généraux pris actuellement par le patient pour d'autres problèmes de santé, enregistrés de façon globale, par catégories : corticoïdes, immunosuppresseurs, hormones, anxiolytiques, antidépresseurs, médicaments pour la thyroïde, pour l'estomac, pour l'hypertension et « autres » ;
- 7) L'état général du patient : immunodépression connue (et identification), prise d'un traitement immunodépresseur, diabète, pathologie thyroïdienne (et identification), infections à répétition, grossesse, terrain atopique personnel.

Pour chaque patient inclus dans l'étude de suivi, à chaque consultation de suivi, ont été enregistrés : la date de la consultation, les densités en Demodex, la présence des symptômes (ou leur disparition), le type de traitement appliqué et la compliance du patient. Le patient a été considéré comme compliant quand il confirmait avoir bien appliqué le traitement suivant les consignes.

4.1.4. Méthodes de prélèvement

La **SSSB** est une méthode d'échantillonnage qui prélève 1 cm² de la partie superficielle de la couche cornée et du contenu folliculaire (§ 3.2.) (Fig. 83).⁵¹ Elle consiste à tracer un carré délimitant une surface interne de 1 cm² sur une lame de microscope lavée (à coins cassés et à bords rodés de préférence, pour le confort du patient) avec une encre résistante à l'eau, par transparence sur un papier quadrillé standard. Deux repères médians sont tracés en pointillés, partageant la surface de 1 cm² en quatre, pour faciliter le comptage ultérieur des parasites. Ensuite, on retourne la lame et on dépose sur l'autre côté une goutte de colle cyanoacrylate (Loctite®) au centre du carré et on applique la lame côté colle sur la peau. Après séchage (environ 1 à 2 min), on l'enlève délicatement.⁵¹

L'échantillon est alors clarifié avec 2 à 3 gouttes d'huile d'immersion, puis recouvert d'une lamelle couvre-objet, et étudié au microscope aux grossissements standards (x 40, x 100). Le nombre de Demodex comptés sur la surface de 1 cm² permet d'obtenir sa densité.

Dans notre étude, la peau du patient et les lames porte-objet sont d'abord nettoyées à **l'éther** et **2 SSSBs** sont ensuite pratiquées successivement au même endroit, permettant la mesure de 2 densités en Demodex (D/cm²) : superficielle (SSSB1) et profonde (SSSB2) (Fig. 83). La somme de ces 2 valeurs (SSSB1+2) est également notée.

Les SSSBs ont été réalisées sur le site des principales lésions cutanées, de préférence sur la joue si elle était atteinte (car la joue est l'endroit où sont observées les Dds les plus élevées)^{223,224} et ont été contrôlées au même endroit lors du suivi.

Pour les patients présentant une atteinte oculaire clinique, quelques cils ont été épilés à la pince, de préférence ceux présentant une collerette à leur base. Le nombre de **cils épilés** et le nombre de Demodex visualisés sur les cils ont également été recueillis (Fig. 84 (a)).

De façon anecdotique, car assez douloureuse, une analyse de **cheveux** a été réalisée chez 2 patients : pour l'un, au moyen d'une unique SSSB après coupe de cheveux très courts et pour l'autre, par épilation d'une mèche de cheveux (Fig. 84 (b)) (§ 4.2.4.).

En cas de suspicion clinique d'une infection bactérienne associée, un **frottis bactériologique** a été effectué, et envoyé au laboratoire de bactériologie.

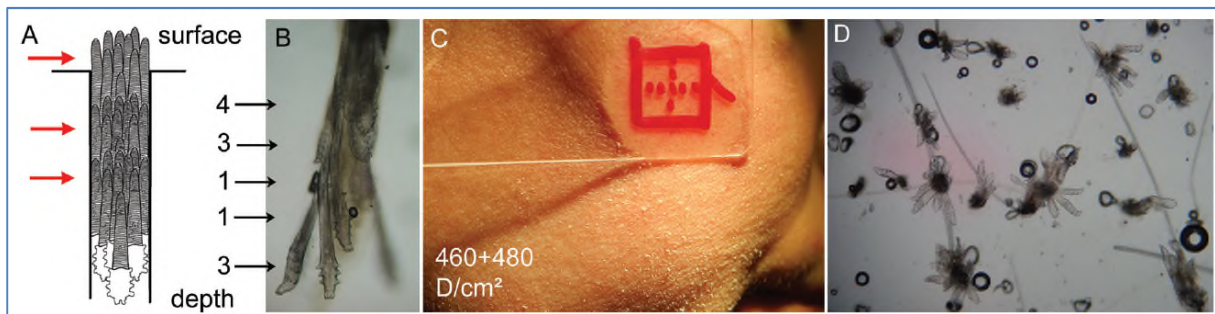


Fig. 83. La double biopsie de surface standardisée cutanée.²¹²

(A) Représentation schématique de nombreux *D. folliculorum* agglutinés à différents niveaux (flèches rouges) à l'intérieur du follicule ;

(B) Vue microscopique ($\times 100$) de 12 *D. folliculorum* agglutinés à différents niveaux du follicule sur une biopsie de surface cutanée standardisée (SSSB) (les chiffres à côté des flèches indiquent le nombre d'acariens à chaque niveau) : ce tableau est assez peu souvent observé car, généralement, le contenu du follicule se brise et les différents niveaux sont observés sur les différents SSSBs consécutives.

(C) Pityriasis folliculorum sur la joue droite d'une femme de 41 ans, sur laquelle est collée la lame de la SSSB. Les opisthosomes des acariens les plus superficiels sont visibles sous forme de fines écailles folliculaires blanchâtres à la base des poils, donnant une fausse impression de peau sèche. Les valeurs des SSSB1+SSSB2 sont indiquées sur la figure.

(D) Vue microscopique ($\times 40$) de nombreux *D. folliculorum* ($n=73$) tels qu'ils apparaissent habituellement sur une SSSB : 1 niveau de Demodex est observé dans chaque follicule, avec 1 à 9 Demodex par follicule.

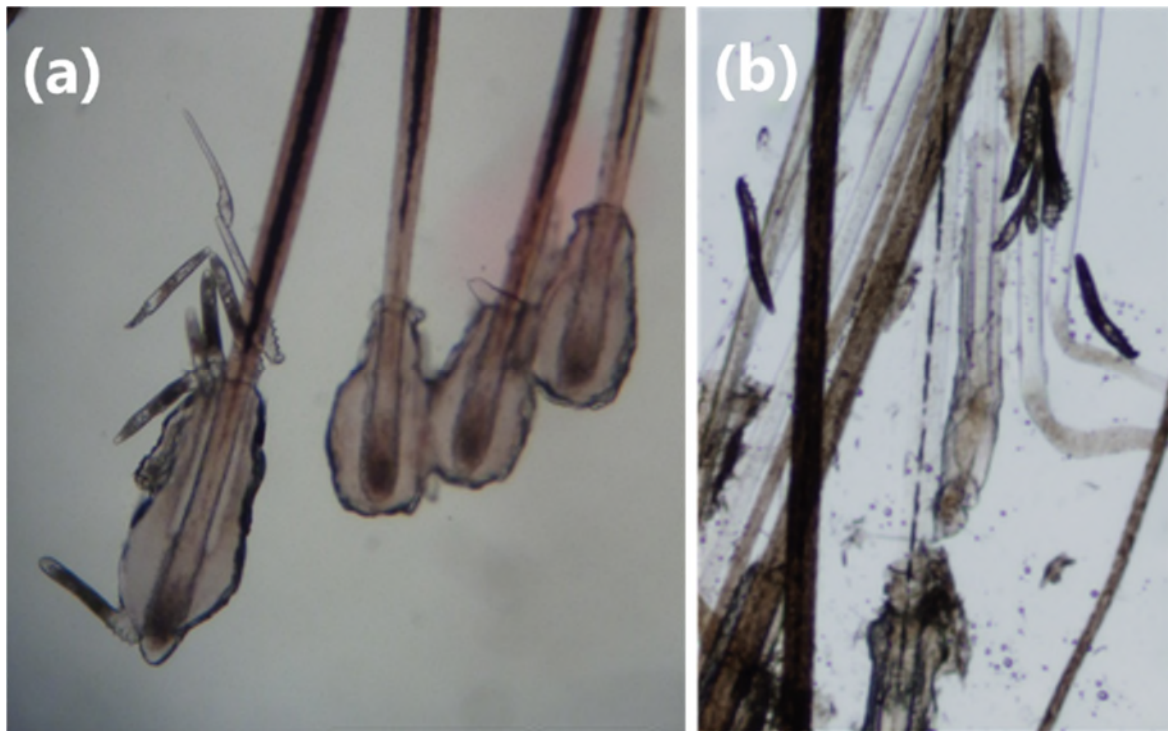


Fig. 84. *D folliculorum* observés sur des cils et les cheveux épilés : (a) 8 à 9 *D folliculorum* sur 1 des 4 cils épilés ; (b) 7 *D folliculorum* sur quelques cheveux épilés.

4.1.5. Analyses statistiques

Les variables continues sont résumées sous forme de moyennes et d'erreur standard de la moyenne (SEM), des (min-max) et les variables qualitatives sous forme d'effectifs et de pourcentages. Les différences de moyennes dans le cas des variables continues ont été comparées entre les groupes à l'aide d'analyses de covariance (ANCOVA), incluant l'âge et le sexe en tant que covariables suivies de tests Sidak pour des comparaisons multiples si nécessaire. Néanmoins, en l'absence d'effets de l'âge et du sexe, les variables continues ont été comparées à l'aide des tests t classiques de Student ou des tests de Welch en cas d'inégalité de variance, ou avec un test d'analyse de variance (ANOVA) suivie, en cas de test significatif, de tests de comparaison multiple Sidak ou Dunnett T3, selon les résultats du test d'homoscédasticité de Levene. Les différences dans les probabilités d'existence d'une caractéristique déterminée de variables qualitatives ont été comparées entre les groupes à l'aide de tests chi-carrés exacts de Pearson.

Concernant la comparaison avec les RETs, les corrections pour les comparaisons multiples effectuées sur des groupes indépendants ont également été réalisées à l'aide de la procédure Benjamini-Hochberg.^{566,567}

Les corrélations bivariées entre variables continues ont été analysées à l'aide de tests statistiques sur les coefficients de corrélation de Pearson. Les valeurs seuils proposées pour classer les Dds en valeurs normales ou anormales ont été basées sur le critère de Youden, pour chacune des 2 SSSBs consécutives.

La signification statistique a été considérée lorsque $p < 0,05$. Toutes les analyses statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel IBM-SPSS (version 22.0 à 26.0) (IBM Corp, Armonk, NY, USA) ou du logiciel MedCalc® version 14.12.0 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium ; <http://www.medcalc.org>; 2014).

4.2. RESULTATS

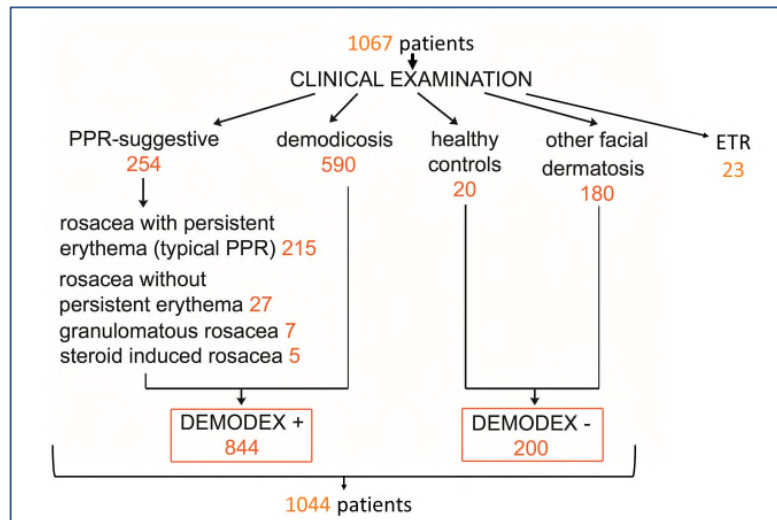
Ci-après, se retrouvent les principaux résultats de la thèse, ainsi que les différents articles et quelques commentaires spécifiques.

4.2.1. Effectifs, âge et sexe

Nous avons collecté au départ les données de 1076 patients, mais nous avons dû exclure neuf patients : sept pour lesquels le diagnostic clinique était incertain, et deux pour qui la deuxième SSSB n'a pas pu être faite car la première avait trop irrité la peau, et avait produit une légère suffusion hémorragique.

Au total donc, **1067 patients ont été inclus dans l'analyse** : 254 patients présentant une PPR-suggestive, 590 patients atteints de démodécie, 23 atteints de RET, 180 atteints d'autres dermatoses faciales et 20 patients avec une peau saine au niveau du visage (Tableau 7, Fig. 85).

Fig. 85. Effectifs des patients inclus dans l'analyse en fonction de leurs diagnostics cliniques et du regroupement secondaire en fonction de la densité moyenne en Demodex des groupes.



Les 254 patients présentant une PPR-suggestive comprennent

215 (85 %) patients avec érythème persistant (RPP typiques suivant le consensus), 27 (11 %) sans érythème persistant, 7 (3 %) avec rosacée granulomateuse et 5 (2%) avec rosacée stéroïdienne (Tableau 7).

Les 590 démodécies se composent de 445 pityriasis folliculorum, 80 eczématides folliculaires, 44 folliculites, 14 hyperpigmentations, 6 papules inflammatoires isolées et 1 démodécie oculaire isolée (Tableau 7).

Les 180 autres dermatoses faciales se composent de 70 acnés vulgaires, 33 dermatites séborrhéiques, 10 ulérythèmes ophryogènes, 7 dermatites atopiques, 8 dermites de contact, 7 peaux sèches (dont eczématides), 7 dermites irritatives, 6 hyperpigmentations, 5 folliculites, 4 dermatites péri-orales, 3 lupus érythémateux

Clinical groups	patients	
	n	%
PPR suggestive :		
with persistent erythema	215	25.5
without persistent erythema	27	3.2
granulomatous rosacea	7	0.8
steroid-induced rosacea	5	0.6
PPR-suggestive ALL	254	30.1
Demodicosis :		
Pityriasis folliculorum	445	52.7
Follicular eczematids	80	9.5
Folliculitis	44	5.2
Pigmentation	14	1.7
Isolated inflammatory papule	6	0.7
Isolated ocular demodicosis	1	0.1
Demodicosis ALL	590	69.9
TOTAL	844	100.0

Tableau 7. Sous-groupes diagnostiques dans les groupes cliniques « PPR-suggestives » et « démodécies ».

Diagnosis of the other dermatoses :	Patients	
	%	n
Acne Vulgaris	38.9	70
Seborrheic Derm	18.3	33
Ulerythema Ophryogene	5.6	10
Atopic Dermatitis	3.9	7
Contact Dermatitis	4.4	8
Dry Skin (+ Eczematids)	3.9	7
Irritation Dermatitis	3.9	7
Hyperpigmentations	3.3	6
Perioral Dermatitis	2.2	4
Folliculitis	2.8	5
Lupus	1.7	3
others	11.1	20
Other dermatoses (All)	100	180

Tableau 8. Sous-groupes diagnostiques dans le groupe clinique « autres dermatoses faciales ».

chroniques, 20 autres (6 patients présentant à la fois une dermatite séborrhéique et une acné vulgaire, 1 présentant à la fois une dermatite périorale et une dermatite séborrhéique, 1 avec à la fois une dermatite périorale et une acné vulgaire, 2 psoriasis, 1 toxidermie lichénoïde, 1 pelade, 1 prurigo, 1 sclérodémie, 1 dermatite des prés, 1 impétigo, 1 lucite polymorphe, 1 acné sous isotrétinoïne, 1 acné sur cosmétique) (Tableau 8).

Parmi les 1 067 patients, l'âge moyen est de 45±0,5 ans (extrêmes : 7-98 ans) et 68 % sont des femmes (Tableau 9). L'âge moyen des contrôles sains et des patients atteints d'autres dermatoses faciales n'est pas statistiquement différent (p = 0,088), de même que celui des patients atteints de PPR-suggestive et de démodicose (p = 0,193). Cependant, certaines différences d'âge et de sexe sont observées entre les groupes (Tableau 9). Les patients du groupe "Demodex-" sont plus jeunes (36,6 ± 1,0 vs. 46,5 ± 0,5 ans, p < 0,001) et plus susceptibles d'être des femmes (75,0% vs. 66,6%, p = 0,023) que ceux du groupe "Demodex+" (Tableau 10).

Tableau 9. Age et sexe dans la population étudiée.

Clinical groups	All patients				Women		Men		Women % in each group	p
	n	Age		Min - Max	n	Age	n	Age		
		mean ± SEM	p			mean ± SEM		mean ± SEM		
Healthy controls	20	43,4 ± 4,2		17,2 - 82,8	18	45,1 ± 4,4	2	27,8 ± 6,7	90	0,034
Other dermatosis	180	35,8 ± 0,9		11,1 - 81,2	132	37,1 ± 1,1	48	32,1 ± 1,9	73,3	
ETR	23	56,2 ± 3,2	0,031	34,2 - 82,6	18	56,4 ± 3,9	5	55,2 ± 5,2	78,3	
Demodicosis & PPR suggestive	844	46,5 ± 0,5	<0,001	7,4 - 98,3	562	45,8 ± 0,6	282	47,9 ± 1,0	66,6	
All patients*	1067	44,8 ± 0,5	<0,001	7,4 - 98,3	730	44,5 ± 0,6	337	45,6 ± 0,9	68,4	

*No age difference was observed in the whole set of 1067 patients according to gender (p=0.300).

Tableau 10. Population étudiée en fonction des sous-groupes diagnostiques.

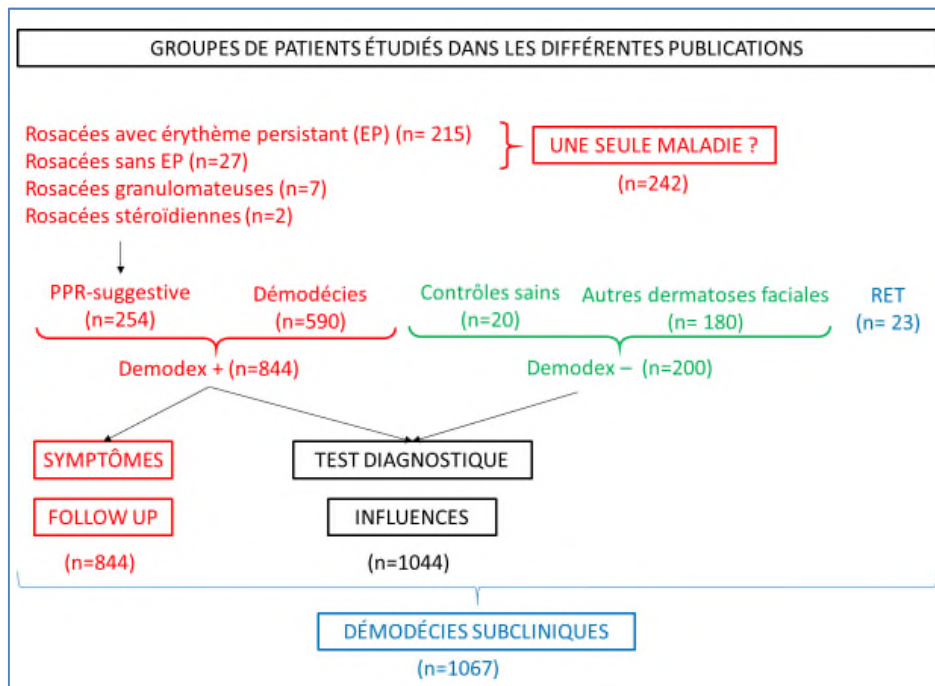
Clinical Subgroups	ALL PATIENTS				WOMEN			MEN			% Women	p
	n	%	Age		n	%	Age	n	%	Age		
			mean ± SEM	p			mean ± SEM			mean ± SEM		
PPR-suggestive	254	29.8	47.6 ± 1.0	0.001	186	33.1	46.5 ± 1.0	68	24.1	50.4 ± 2.1	73.2	< 0.001
pityriasis folliculorum (PF)	445	53.3	47.6 ± 0.8	0.001	271	48.2	47.6 ± 0.9	174	61.7	47.6 ± 1.3	60.9	
follicular eczematids	80	9.3	38.6 ± 1.3		73	13.0	38.6 ± 1.3	7	2.5	37.7 ± 5.6	91.3	
folliculitis	44	5.2	46.5 ± 1.9	0.008	17	3.0	45.2 ± 2.8	27	9.6	47.3 ± 2.5	38.6	
pigmentation with PF	14	1.6	33.4 ± 2.7	0.005	10	1.8	34.3 ± 1.9	4	1.4	31.0 ± 8.7	71.4	
isolated inflammatory papule	6	0.7	58.2 ± 5.7	0.038	4	0.7	58.2 ± 9.0	2	0.7	58.2 ± 1.6	66.7	
ocular attack alone	1	0.1	43.4 ± -		1	0.2	43.4 ± -	0	0.0	-	100	
"DEMODEX +" group	844	100	46.5 ± 0.5	<0.001	562	100	45.8 ± 0.6	282	100.0	47.9 ± 1.0	66.6	
healthy controls	20	10.0	43.4 ± 4.2		18	12.0	45.1 ± 4.4	2	4.0	27.8 ± 6.7	90	0.034
other dermatosis	180	90.0	35.8 ± 0.9	0.031	132	88.0	37.1 ± 1.1	48	96.0	32.1 ± 1.9	73.3	
"DEMODEX -" group	200	100	36.6 ± 1.0		150	100	38.1 ± 1.1	50	100.0	31.9 ± 1.8	75	
ETR (without visible PF)	23	100	56.2 ± 3.2		18	-	56.4 ± 3.9	5	-	55.2 ± 5.2	78.3	

No SSD concerning age was observed between the 20 healthy controls and respectively: (a) the 180 other dermatosis (p=0.088), (b) the 844 demodicosis (p=0.376), and (c) the 254 suggesting PPR (p=0.247).

Nous avons donc utilisé, dans la plupart des comparaisons, une **méthode statistique qui tient compte de ces différences d'âge et de sexe entre les groupes (ANCOVA)** : elle corrige pour ces facteurs confondants potentiels de sorte

que les différences observées dans les Dds ne peuvent pas être expliquées par les inégalités démographiques éventuelles.

En fonction des questions analysées dans les différents articles, les groupes



diagnostiques concernés ont été sélectionnés pour les différentes analyses (Fig. 86).

Fig. 86. Effectifs (n) dans les groupes et sous-groupes analysés dans les différents articles.

Concernant les études du follow-up, des 844 patients atteints de démodécies ou de PPR-suggestive qui ont au départ été sélectionnés, tous n'ont pas été analysés. En effet, seulement 676 (80,1%) sont revenus au moins une fois. De ceux-ci, 34 patients ont été exclus : 25 patients n'ont qu'une seule mesure dans l'épisode 1 (quand ils sont revenus, ils étaient en récurrence après avoir stoppé spontanément leur traitement), 6 avaient une Dd normale au départ (J0), 1 patient n'avait qu'une atteinte oculaire isolée (sans atteinte faciale clinique), pour 1 patient l'emplacement de la SSSB a changé entre les visites (nez au JO et joue ensuite), 1 doublon a été exclu. Des 642 patients restants, 626 ont été traités avec un traitement acaricide d'attaque au J0 ; de ceux-ci, 427 ne présentaient aucune autre dermatose faciale associée, et parmi eux, 394 avaient reçu un traitement acaricide à base de BB sans traitement anti-inflammatoire associé : ils ont été inclus dans l'analyse des deux premières consultations (Fig. 87).

En ce qui concerne l'analyse du premier épisode en entier, 50 patients supplémentaires ont été exclus car, par la suite, ils ont reçu un autre traitement ou n'ont pas été traités ou ont changé de groupe thérapeutique (« low dose » vers « high dose », ou l'inverse) au cours de l'épisode.

Au final donc 394/844 (47%) des patients ont été inclus dans l'étude concernant l'analyse des deux premières mesures, et 344/844 (41%) dans l'étude concernant l'analyse du premier épisode en entier (Fig. 87).

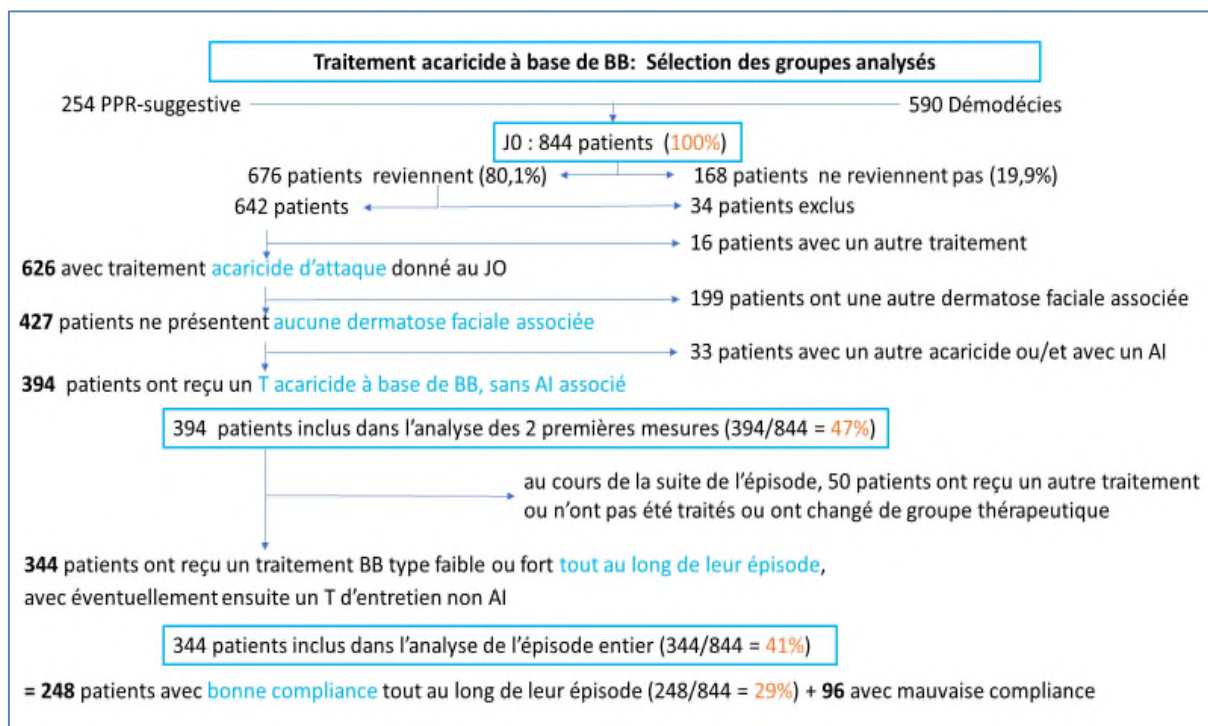


Fig. 87. Sélection des patients pour les 2 études de follow-up.

4.2.2. Densités dans les groupes et sous-groupes diagnostiques

Comme on s'y attendait, les Dds moyennes sont élevées dans les groupes démodécies et PPR-suggestives, tandis qu'elles sont basses dans ceux des contrôles sains et autres dermatoses faciales, et intermédiaires pour les RETs (Tableau 11). **La SSSB2 moyenne est plus élevée que la SSSB1 moyenne** dans les groupes des démodécies, des PPR-suggestive et "autres dermatoses faciales" (chaque fois : $p < 0,001$), **la SSSB2 moyenne valant approximativement le double de la SSSB1 moyenne.**

Tableau 11. Densités en Demodex (D/cm²) dans chaque groupe diagnostique, comparées à celles des contrôles sains.

Clinical Groups	Patients n	SSSB 1			SSSB 2			SSSB 1+2		
		mean ± SEM	Min-Max	p	mean ± SEM	Min-Max	p	mean ± SEM	Min-Max	p
Healthy controls	20	1.8 ± 1.1	0 - 23	-	5.1 ± 2.1	0 - 35	-	6.9 ± 2.9	0 - 45	-
Other facial dermatosis	180	0.4 ± 0.1	0 - 7	0.248	1.3 ± 0.3	0 - 27	0.088	1.8 ± 0.3	0 - 32	0.092
ETR	23	15.7 ± 6.3	0 - 110	0.042	38.0 ± 13.7	0 - 244	0.026	53.7 ± 18.1	0 - 279	0.017
PPR-suggestive	254	86.6 ± 7.3	0 - 756	0.001	197.0 ± 12.1	0 - 1280	<0.001	283.6 ± 17.2	0 - 1464	<0.001
Demodicosis	590	82.7 ± 4.2	0 - 624	0.001	172.2 ± 7.7	0 - 1256	<0.001	254.9 ± 10.3	2 - 1440	<0.001

p value: compared with the 20 healthy controls (ANCOVA with age and sexe as covariables).

L'analyse détaillée des sous-groupes est également intéressante :

- **Les patients avec d'autres dermatoses faciales** ont tendance à avoir des Dds moyennes inférieures à celles des contrôles sains, sans que cette différence soit statistiquement significative ; et, parmi eux, aucun sous-groupe n'a une Dd moyenne plus haute que les contrôles sains (Tableau 12).

- Au sein des **patients avec PPR-suggestive, les Dds moyennes des RPPs typiques** semblent être légèrement supérieures à celles des autres sous-groupes, mais la comparaison des 4 sous-groupes ne permet pas de mettre en évidence de différence statistiquement significative, probablement en raison des effectifs faibles de certains sous-groupes (Tableau 13). Les patients avec RPP typiques (n=215) ont des Dds moyennes légèrement supérieures à celles des patients avec démodicie (n=590) (p = 0,018 pour SSSB2, p = 0,034 pour SSSB1+2, p = 0,474 pour SSSB1), et nettement supérieures à celles des patients Demodex- (chaque fois : p < 0,001).
- Les patients avec **pityriasis folliculorum** ont une très haute Dd (Tableau 14).

Tableau 12. Densités en Demodex dans les sous-groupes de patients avec d'autres dermatoses faciales.

Clinical Groups & subgroups	Patients		SSSB 1				SSSB 2				SSSB 1+2			
	%	n	mean ± SEM	Min-Max	p	mean ± SEM	Min-Max	p	mean ± SEM	Min-Max	p	mean ± SEM	Min-Max	p
HEALTHY CONTROLS		20	1.8 ± 1.1	0 - 23	-	5.1 ± 2.1	0 - 35	-	6.9 ± 2.9	0 - 45	-			
acne vulgaris	38.9	70	0.3 ± 0.1	0 - 7	0.208	0.9 ± 0.3	0 - 16	0.060	1.2 ± 0.4	0 - 23	0.065			
seborrheic dermatitis	18.3	33	0.5 ± 0.2	0 - 6	0.261	1.8 ± 0.5	0 - 10	0.132	2.2 ± 0.6	0 - 14	0.127			
ulerythema ophryogene	5.6	10	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.279	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.024	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.027			
atopic dermatitis	3.9	7	1.9 ± 0.8	0 - 5	0.978	4.4 ± 3.8	0 - 27	0.873	6.3 ± 4.3	0 - 32	0.912			
contact dermatitis	4.4	8	0.1 ± 0.1	0 - 1	0.369	2.6 ± 2.6	0 - 21	0.509	2.8 ± 2.8	0 - 22	0.405			
dry skin (+ eczematids)	3.9	7	0.4 ± 0.3	0 - 2	0.492	0.6 ± 0.6	0 - 4	0.048	1.0 ± 0.8	0 - 6	0.062			
irritation dermatitis	3.9	7	0.1 ± 0.1	0 - 1	0.406	0.4 ± 0.4	0 - 3	0.039	0.6 ± 0.4	0 - 3	0.042			
hyperpigmentations	3.3	6	0.3 ± 0.2	0 - 1	0.496	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.024	0.3 ± 0.2	0 - 1	0.035			
folliculitis	2.8	5	0.8 ± 0.8	0 - 4	0.675	1.6 ± 0.9	0 - 5	0.419	2.4 ± 1.3	0 - 6	0.452			
perioral dermatitis	2.2	4	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.497	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.293	0.0 ± 0.0	0 - 0	0.304			
lupus	1.7	3	1.7 ± 1.7	0 - 5	0.966	2.0 ± 1.5	0 - 5	0.579	3.7 ± 3.2	0 - 10	0.677			
others	11.1	20	0.7 ± 0.3	0 - 4	0.335	2.3 ± 0.9	0 - 12	0.280	3.0 ± 1.1	0 - 15	0.214			
OTHER DERMATOSIS All		100 180	0.4 ± 0.1	0 - 7	0.248	1.3 ± 0.3	0 - 27	0.088	1.8 ± 0.3	0 - 32	0.092			

p value: comparison with the 20 healthy controls (ANCOVA with age and sexe as covariables when the variances of the SSSB are homogeneous; Welch t-tests when they are not homogeneous).

En vert : sous-groupes avec densités en Demodex plus faibles que les contrôles sains. En rouge et orange : maximas élevés.

Tableau 13. Densités en Demodex dans les sous-groupes de PPR-suggestives.

Clinical subgroups	patients		SSSB 1			SSSB 2			SSSB 1+2		
	n	%	mean ± SEM	Min - Max	p	mean ± SEM	Min - Max	p	mean ± SEM	Min - Max	p
with persitent erythema	215	84.6	90.9 ± 8.2	0 - 756	0.342	207.5 ± 13.6	1 - 1280	0.236	298.5 ± 19.4	5 - 1464	0.182
without persistent erythema	27	10.6	60.3 ± 17.4	0 - 420		130.2 ± 23.4	4 - 452		190.5 ± 35.6	11 - 872	
granulomatous rosacea	7	2.8	85.3 ± 36.9	1 - 245		160.3 ± 57.7	11 - 420		245.6 ± 86.7	12 - 665	
steroid induced rosacea	5	2.0	42.4 ± 36.5	0 - 188		157.4 ± 87.9	0 - 440		199.8 ± 108.3	0 - 476	
All PPR-suggestive	254	100.0	86.6 ± 7.3	0 - 756		197.0 ± 12.1	0 - 1280		283.6 ± 17.2	0 - 1464	

Tableau 14. Densités en Demodex dans les sous-groupes de démodicies.

Clinical Groups	Patients		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
	n	%	mean ± SEM	Min-Max	mean ± SEM	Min-Max	mean ± SEM	Min-Max
Pityriasis folliculorum	445	75,4	91 ± 5	0 - 616	194,3 ± 9,3	1 - 1256	285,1 ± 12,4	8 - 1440
Follicular Eczematids	80	13,6	47,2 ± 6,7	0 - 308	80,2 ± 11,8	0 - 592	127,4 ± 15,8	2 - 692
Folliculitis	44	7,5	90,9 ± 22,1	0 - 624	172,2 ± 23,8	7 - 680	263,1 ± 38,5	9 - 1068
Pigmentation	14	2,4	23,9 ± 10,4	0 - 154	45,7 ± 19,2	6 - 280	69,6 ± 21,2	8 - 289
Isolated Inflam. Papule	6	1,0	52,5 ± 17,8	4 - 120	77,7 ± 45,2	16 - 302	130,2 ± 60,5	20 - 422
Isolated ocular demodicosis	1	0,2	2,0 ± -	2 - 2	12,0 ± -	12 - 12	14,0 ± -	14 - 14
Demodicosis ^c	590	100	82,7 ± 4,2	0 - 624	172,2 ± 7,7	0 - 1256	254,9 ± 10,3	0 - 1440

4.2.3. Test diagnostique²¹²

Afin de faciliter le diagnostic de la RPP et des démodécies, nous avons voulu fournir un test diagnostique utile pour aider les dermatologues dans leur pratique quotidienne. La SSSB simple que nous avons déjà proposée en 1993 a bien été acceptée par la plupart des auteurs pour mesurer la Dd, mais non pour confirmer le diagnostic de RPP. Il est vrai qu'elle n'est pas très sensible et n'a pas été validée par la mesure de la Dd parmi les autres dermatoses faciales.

Nous avons donc essayé de combler ces lacunes en améliorant la technique de SSSB pour la rendre plus sensible et en étudiant cette technique améliorée non seulement auprès de patients atteints de PPR-suggestive, de démodécie et avec une peau saine, mais aussi dans un groupe de patients présentant d'autres dermatoses faciales, en particulier l'acné vulgaire et la dermatite séborrhéique, deux dermatoses qui peuvent ressembler à la RPP et aux démodécies et qui sont par ailleurs connues comme étant souvent associées à la rosacée.

Afin de déterminer les valeurs « cut-off » optimales des deux SSSBs consécutives, nous n'avons pas pris en considération le groupe des RETs, avec Dd moyennes intermédiaires, et avons donc uniquement considéré les groupes avec Dds extrêmes, soit 1044 patients, regroupés en 2 groupes : « Demodex+ » et « Demodex- ».

L'article est en libre accès sur internet :

<https://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.2340/00015555-2528?ref=search>

S'y retrouvent : l'article principal, ainsi que des fichiers supplémentaires pour l'internet, dont une vidéo.

4.2.3.1. *L'article principal*



Two Consecutive Standardized Skin Surface Biopsies: An Improved Sampling Method to Evaluate Demodex Density as a Diagnostic Tool for Rosacea and Demodicosis

Fabienne M. N. FORTON¹ and Viviane DE MAERTELAER²

¹Dermatologist, rue Frans Binjé 8, BE-1030 Brussels, and ²Free University of Brussels (ULB), Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie humaine et moléculaire (IRIBHM) & Service de Biostatistique et Informatique médicale (SBIM), Brussels, Belgium. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Diagnosing papulopustular rosacea is not always straightforward; no specific diagnostic test is currently available. A high density of Demodex mites is consistently observed in this condition. This retrospective study assesses an improved method for evaluating Demodex density among 1,044 patients presenting to our dermatology practice. The skin was cleaned with ether and Demodex densities were measured in 2 consecutive standardized skin surface biopsies taken from the same site. Mean densities in patients with rosacea and demodicosis were much higher than those in healthy controls and patients with other facial dermatoses. The optimal cut-off values for the 2 biopsies were combined and the resultant criterion (presence of a first biopsy density > 5 Demodex/cm² or a second biopsy density > 10 Demodex/cm²) enabled confirmation of a diagnosis of rosacea or demodicosis with a sensitivity of 98.7% and specificity of 95.5%, making this a valuable diagnostic tool for dermatologists in routine clinical practice.

Key words: Demodex; rosacea; demodicosis; acne vulgaris; seborrheic dermatitis; standardized skin surface biopsy.

Accepted Aug 29, 2016; Epub ahead of print Aug 30, 2016

Acta Derm Venereol 2017; 97: 242–248.

Corr: Fabienne Forton, rue Franz Binjé, 8, BE-1030 Brussels, Belgium. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Rosacea is a common dermatosis, affecting approximately 10% of the population in Sweden (1). It is defined by the consensus of the National Rosacea Society (NRS) as a central face distribution of at least 1 of 4 primary features: flushing, persistent erythema, papules and pustules, or telangiectasia (2). Four subtypes of rosacea were defined by the NRS consensus: erythematotelangiectatic rosacea, papulopustular rosacea (PPR), phymatous rosacea, and ocular rosacea; and one variant (granulomatous rosacea), each associated with specific groups of symptoms (2). PPR is the most difficult to diagnose. It can be confused with other common dermatoses, such as acne vulgaris and seborrheic dermatitis, and can also coexist with these dermatoses (2–6). According to the consensus definition, 2 key clinical features are considered necessary for a diagnosis of PPR: persistent erythema and transient papulopustules (2). At present, no diagnostic test is available.

Demodicosis is also a frequent skin condition (3), but is underdiagnosed (3, 7–9). The definition and classification of demodicosis are still being debated (10–12). Diagnosis is suggested by the presence of non-specific features, including follicular scales, redness, sensitive skin, pruritus, perifollicular macules or papules, atypical eczematiform eruption, folliculitis, isolated inflammatory papules and pigmentation (3, 11–17) and confirmed by the presence of a high density of Demodex mites (3, 7, 10, 11, 13, 14, 18, 19) and by clinical cure after acaricidal treatment along with normalization of Demodex density (Dd) (14, 15, 17, 19).

Although a pathophysiological role of Demodex is generally accepted in demodicosis, it remains controversial in PPR (12, 20). Nevertheless, high mean Dds are consistently observed in PPR (18, 21–27), cases of PPR with low Dd values are rare (12.5–16%) (3, 25) and topical acaricidal treatment has been shown to have beneficial effects in patients with PPR, supporting a key role of the mite in this condition (19, 28). It is also beginning to be accepted that Demodex mites are one of numerous triggering factors for Toll-like receptor 2, which is implicated in the immune reaction observed in PPR (29).

In 1971, Marks & Dawber (30) described the skin surface biopsy, a method in which the superficial part of the horny layer of the skin and the follicular content are sampled, allowing the presence of *Demodex folliculorum* (which mainly lives in hair follicles) to be detected. In 1993, we introduced the concept of “Demodex density”, and adapted the method of Marks & Dawber so that this density could be measured; we standardized the surface to be analysed and called this method the standardized skin surface biopsy (SSSB) (18). By comparing patients with rosacea with healthy controls, we proposed a cut-off value of 5 Demodex/cm² (D/cm²) for a diagnosis of PPR (18), which was subsequently confirmed and adopted by others (8, 31–36). This sampling method is quick and simple, reproducible, only slightly invasive, well-tolerated by patients (3, 37), cheap and, therefore, readily available to all dermatologists; however, its sensitivity is not very high (55%) (18, 38). In 1998, to increase the sensitivity, we proposed that the skin and the biopsy slide should be cleaned with ether before the SSSB and that a second, and therefore deeper, SSSB should be performed at the same site immediately after the first (**Fig. 1**) (38).

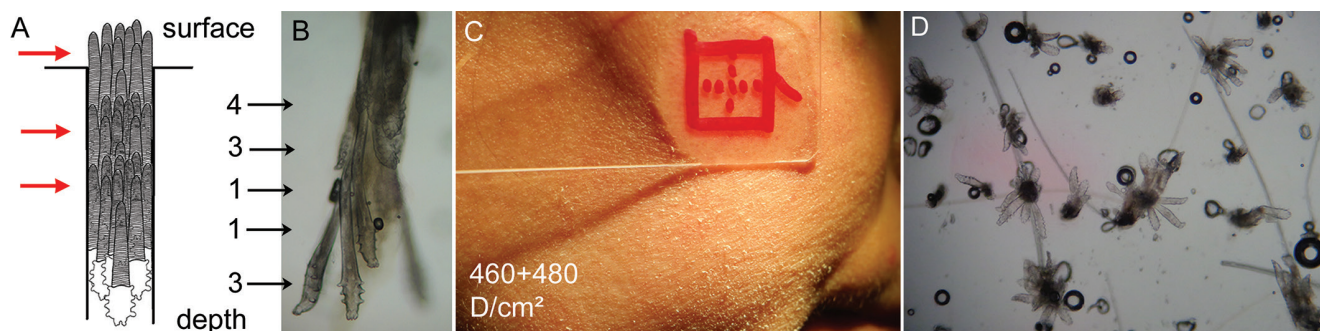


Fig. 1. *Demodex folliculorum* dispersed along the follicles is collected by consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs). (A) Schematic representation of numerous *Demodex* mites, agglutinated at different levels (red arrows) inside the follicle. (B) Microscopic view ($\times 100$) of 12 *D. folliculorum* agglutinated at different levels of the follicle on a standardized skin surface biopsy (SSSB) (numbers next to the arrows indicate the number of mites at each level): this picture is relatively rarely observed because usually the follicle content breaks and the different levels are kept by stumps on the consecutive SSSBs. (C) Pityriasis folliculorum on the right cheek of a 41-year-old woman, with the lamina of the SSSB (18). The opisthosomas of the most superficial mites are visible as thin, white follicular scales at the base of the hair, giving a frosted appearance and a rough texture, often felt to be dry skin by the patient. SSSB1+SSSB2 are indicated on the figure. (D) Microscopic view ($\times 40$) of numerous *D. folliculorum* ($n=73$) as they usually appear on SSSB: 1 level of *Demodex* is observed in each follicle, with 1–9 D/follicle.

This approach has since been used by other groups (3, 19, 32, 37, 39, 40).

In the present study, we investigate for the first time the systematic use of this deeper second sampling for *Demodex* in groups of patients with PPR, demodicosis and healthy skin, but also in a group of patients with other facial dermatoses, particularly those that can resemble PPR clinically.

We determined optimal cut-off Dd values for each of the 2 consecutive samples, and combined these 2 values to obtain an overall diagnostic criterion. We then validated this criterion in patients with conditions already known to have high Dds, i.e. PPR and demodicosis.

Our aim was to provide a validated, improved and useful diagnostic tool to assist dermatologists in routine practice.

METHODS

Patients

This retrospective study was approved by the Erasme Hospital ethics committee. All patients attending our dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010 with clinical symptoms and signs suggestive of PPR (rosacea with centro-facial papulopustules) or demodicosis were included in the study.

The PPR-suggestive group was subdivided into patients with “typical PPR” (i.e. centro-facial papulopustules with persistent erythema) and those with other forms (centro-facial papulopustules without persistent erythema, granulomatous rosacea, steroid-induced rosacea). The diagnosis of demodicosis was made by an experienced dermatologist based on the combined presence of several clinical features and signs suggestive of the diagnosis, e.g. follicular scales, papules, folliculitis, pigmentation, pruritus, etc. Each of the patients with a clinical diagnosis suggestive of PPR or demodicosis had 2 successive SSSBs performed.

Patients with other facial dermatoses and healthy control patients (carefully selected to avoid including pityriasis folliculorum or erythematotelangiectatic rosacea) were also included if the consultation time was sufficient for 2 SSSBs to be performed. Patients with an uncertain clinical diagnosis, young children (under 7 years of age) and patients who had previously been treated for demodicosis and were returning for follow-up were not included.

For each patient, the date of consultation, age, sex, clinical diagnosis, location of the SSSBs and Dd values were recorded. Some of the patients with demodicosis and some of the “PPR-suggestive” patients also had other facial dermatoses, which were recorded.

Sampling method

The SSSB is a sampling method in which 1 cm² of the superficial part of the horny layer and of the follicular content is collected (Fig. 1, Video S1¹) (18). In our study, the patient’s skin and the microscope slides were first cleaned with ether and 2 SSSBs were then performed consecutively at the same place, allowing measurement of 2 Dds (D/cm²) (superficial (SSSB1) and deep (SSSB2)). The sum of these 2 values (SSSB1+2) was also noted.

The SSSBs were performed at the site of the main skin lesions, preferably on the cheek, if affected (because the highest Dds have been observed here) (21, 23).

Statistical analysis

Continuous variables are given as means and standard error of the mean (SEM) (min–max) and qualitative variables as percentages.

Differences in continuous variables were compared between groups using an analysis of covariance (ANCOVA), including age and sex as covariates, followed by Sidak tests for multiple comparisons if required. In the absence of age and sex effects, continuous variables were compared using classical Student’s *t*-tests or Welch tests in case of variance inequality, or with an analysis of variance (ANOVA) followed by Sidak or Dunnett T3 multiple comparison tests, when required, according to the results of the Levene test for homoscedasticity. Differences in qualitative variables were compared between groups using exact χ^2 tests.

Statistical significance was considered when p was < 0.05 . All statistical tests were performed using IBM-SPSS (version 22.0) software (IBM Corp, Armonk, NY, USA). Cut-off threshold values were proposed following the criterion of Youden and calculated using MedCalc[®] V14 (Ostend, Belgium) statistical software.

RESULTS

A total of 1,044 patients were included in the analysis: 254 PPR-suggestive, 590 demodicosis, 180 other facial

¹<https://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.2340/00015555-2528>

dermatoses, and 20 healthy controls (Fig. 2). The mean age was 44.6 years (range 7.4–98.3 years; SEM 0.5); 712 (68.2%) were women (Table SI¹). The mean ages of the healthy controls and the patients with other dermatoses were similar ($p=0.088$) as were those of the “PPR-suggestive” and demodicosis patients ($p=0.193$).

The cheek was the most frequent biopsy site in each group: 19/20 (95%) in the healthy controls, 143/180 (79.4%) for other facial dermatosis, 485/590 (82.2%) for demodicosis and 225/254 (88.6%) for PPR-suggestive patients.

The 2 consecutive SSSBs were generally well tolerated. Mild bleeding occurred in 3 of 1,046 patients (Fig S1¹): after the first SSSB in 2 patients (for whom the second SSSB was not performed and the patients thus excluded), and after the second SSSB in one patient.

Demodex densities

As expected, patients with demodicosis and PPR-suggestive patients had high mean Dds, whereas the healthy controls and patients with other facial dermatoses had low mean Dds (Table I). There were no statistically significant differences in Dds between any of the other facial dermatoses subgroups and the healthy controls. To identify the optimal cut-off values to differentiate between normal and abnormal Dds, the 2 groups with high mean Dds (“PPR-suggestive” and demodicosis) were grouped together as “Demodex +”, and the 2 groups with low mean Dds (healthy controls and other facial dermatoses) were grouped together as “Demodex –” (Fig. 2). Patients in the “Demodex –” group were younger (36.5 ± 0.9 vs. 46.5 ± 0.5 years, $p < 0.001$) and more likely to be female (75.0% vs. 66.6%, $p = 0.023$) than patients in the “Demodex +” group (Table SI¹).

There were no statistically significant differences in the mean Dds in the 4 subgroups of PPR-suggestive patients (data not shown). Patients with “typical PPR” (215/254) had much higher mean Dds (SSSB1: 90 ± 8.2 D/cm², SSSB2: 207.5 ± 13.6 D/cm² and SSSB1+2: 298.5 ± 19.4 D/cm²) than the “Demodex –” group (all $p < 0.001$),

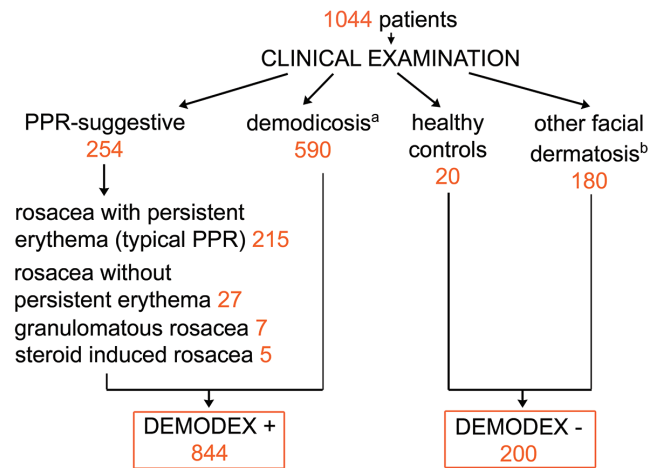


Fig. 2. Constitution of the 4 groups on the basis of the clinical examination. The number of patients in each group is indicated in orange. ^a445 pityriasis folliculorum, 80 follicular eczematides, 44 folliculitis, 14 pigmentation (chloasma-like without pregnancy, hormonal disorder or contraceptive pill), 6 isolated inflammatory papules, 1 isolated ocular demodicosis. ^b70 acne vulgaris, 33 seborrhoeic dermatitis, 10 ulerythema ophryogenes, 7 atopic dermatitis, 8 contact dermatitis, 7 dry skin (+ eczematides), 7 irritation dermatitis, 6 hyperpigmentation, 5 folliculitis, 4 perioral dermatitis, 3 chronic lupus erythematosus, 20 others.

and slightly higher values than the demodicosis group ($p=0.018$ for SSSB2, $p=0.034$ for SSSB1+2, $p=0.474$ for SSSB1).

The mean SSSB2 was significantly higher than the mean SSSB1 in the “Demodex +” and “other facial dermatosis” groups (both $p < 0.001$) (Table I). The same trend was observed in the healthy controls, but was not statistically significant ($p=0.071$).

Among the 844 patients in the “Demodex +” group, 647 had demodicosis or PPR alone and 197 had an associated facial dermatosis (134 seborrhoeic dermatitis, 31 acne vulgaris, 16 both seborrhoeic dermatitis and acne vulgaris, and 16 others). The mean Dds were not influenced by the presence of another facial dermatosis (Table SII¹). Patients with seborrhoeic dermatitis or acne vulgaris only had a high Dd if they also had demodicosis (Table SIII¹).

Diagnostic test

The cut-off Dd values best able to differentiate between the “Demodex +” ($n=844$) and “Demodex –” ($n=200$) groups were > 5 D/cm² for SSSB1, > 10 D/cm² for SSSB2 and > 15 D/cm² for SSSB1+2 (Table II, Fig. 3). The optimal diagnostic criterion for PPR or demodicosis was found to be the combination of an SSSB1 > 5 D/cm² or an SSSB2 > 10 D/cm², which had a specificity of 95.5% for the “Demodex –”

Table I. Demodex densities in the different clinical groups

Clinical groups	Patients <i>n</i>	Demodex densities (D/cm ²)					
		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
		Mean ± SEM	Min–Max	Mean ± SEM	Min–Max	Mean ± SEM	Min–Max
Healthy controls	20	1.8 ± 1.1	0–23	5.1 ± 2.1	0–35	6.9 ± 2.9	0–45
Other dermatoses	180	0.4 ± 0.1	0–7	1.3 ± 0.3	0–27	1.8 ± 0.3	0–32
Demodex –	200	0.6 ± 0.1	0–23	1.7 ± 0.3	0–35	2.3 ± 0.4	0–45
PPR-suggestive	254	86.6 ± 7.3	0–756	197.0 ± 12.1	0–1,280	283.6 ± 17.2	0–1,464
Demodicosis	590	82.7 ± 4.2	0–624	172.2 ± 7.7	0–1,256	254.9 ± 10.3	0–1,440
Demodex +	844	83.9 ± 3.7	0–756	179.7 ± 6.5	0–1,280	263.5 ± 8.9	0–1,464

There were no statistically significant differences in mean Dds between the healthy controls and the other dermatoses group. There was no statistically significant difference in mean Dds between the PPR-suggestive group and the demodicosis group (but the difference was nearly significant for SSSB2 ($p=0.052$)). The “Demodex –” group had much lower mean Dds than the “Demodex +” group, as well as than each group considered separately (PPR-suggestive, demodicosis) ($p < 0.001$ every time). The “Demodex +” group had higher mean Dds than the healthy controls (SSSB1: $p=0.001$, SSSB2 and SSSB1+2: $p < 0.001$) and than the other dermatoses group ($p < 0.001$ every time). SEM: standard error of the mean; SSSB: standardized skin surface biopsy.

Table II. Cut-off values provided by the comparison of "Demodex +" ($n=844$) and "Demodex -" ($n=200$) groups

	Demodex densities (D/cm ²)		
	SSSB 1	SSSB 2	SSSB 1+2
Cut-off proposed	5	10	15
95% CI	3–6	6–17	14–15
Sensitivity, %	89.3	94.3	95.7
95% CI	87.1–91.3	92.5–95.8	94.1–97.0
Specificity, %	98.5	96	97
95% CI	95.7–99.7	92.3–98.3	93.6–98.9

SSSB: standardized skin surface biopsy; CI: confidence interval.

group and a sensitivity of 98.7% for the "Demodex +" group. This sensitivity was statistically significantly higher than that obtained for the method based on SSSB1 alone (98.7% vs. 89.3%, $p<0.001$) (Table II); the decrease in specificity (95.5% vs. 98.5%) was not statistically significant ($p=0.140$).

To validate this new diagnostic criterion, we also applied it to the 2 groups of patients already known to have high Dd values. The sensitivity was 99.2% for the "demodicosis" group ($n=590$) and 98.6% for the "typical PPR" subgroup (with persistent erythema) ($n=215$). Thus, with this criterion, only 6 of the 254 PPR-suggestive patients (2.4%) and 3/215 (1.4%) of the typical PPR patients had a normal Dd. Demodicosis with a normal Dd was very rare, occurring in only 5 (0.8%) of the patients. By contrast, there were 9 patients (4.5%) with high Dds in the "Demodex -" group (3/20 healthy controls and 6/180 with other facial dermatosis).

DISCUSSION

In daily practice, the clinical diagnosis of PPR and demodicosis is not always straightforward: clinical signs are non-specific, sometimes very discrete (e.g. the follicular scales of pityriasis folliculorum), and they can be atypical, mimicking other facial dermatoses. Moreover, these conditions may be present at the same time as other facial dermatoses in the same patient. At present, the diagnosis therefore relies largely on the clinical training and experience of the dermatologist. By developing and validating a more sensitive SSSB for the detection of

Dds, we therefore provide a useful diagnostic tool for PPR and demodicosis to assist dermatologists in routine practice.

Our results confirm the cut-off value of >5 D/cm² for the SSSB1 that we established in 1993 (18), but also suggest a cut-off of >10 D/cm² for SSSB2 and >15 D/cm² for SSSB1+2.

The sensitivity obtained for SSSB1 (89.3%) is higher than that in 1993 (55%) (18). This can be explained by the cleaning of the skin with ether prior to the biopsy. By performing a SSSB2, we further increased the sensitivity by 5% (89.3% to 94.3%), and by combining the cut-off values of the 2 SSSBs in an overall diagnostic criterion (SSSB1 >5 D/cm² or SSSB2 >10 D/cm²) we increased the sensitivity by 9.4% (89.3% to 98.7%) compared with a single SSSB, a statistically significant increase. This high sensitivity and specificity may partly be explained by the exclusion of patients with uncertain clinical diagnoses.

We have confirmed, using a more sensitive method in a larger number of patients, that high Dds are associated with demodicosis and PRR, whereas low Dds are found in the skin of healthy subjects and in patients with other facial dermatoses. A limitation of our study could be the differences in age and sex among our patient groups. However, the statistical method used (ANCOVA) corrects for these potential confounders so that the observed differences in Dds cannot be explained by these demographic inequalities. We also showed that normal Dd values are rare in patients with PPR, even rarer than expected: only 1.4% (3/215) compared with 12.5% in 2005 (6/48) (3). This observation, combined with the high mean Dds in patients with PPR, does not formally prove the pathophysiological role of Demodex in PPR, but adds support to this hypothesis. The rare cases of PPR with low Dds may represent false-negative results: for example, they could represent patients with PPR associated exclusively with *Demodex brevis*, which live inside sebaceous glands and are therefore rarely collected by SSSB. Among the patients with demodicosis, those with low Dd values (0.8%, 5/590) may also represent false negatives or errors in clinical diagnosis.

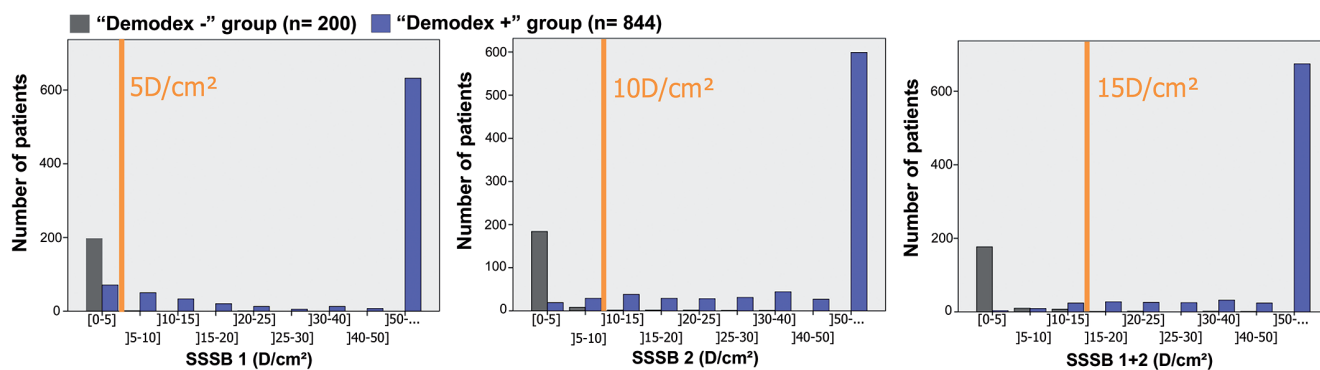


Fig. 3. Distribution of the patients according to the cut-off values proposed based on the Youden index: >5 D/cm² for standardized skin surface biopsy (SSSB)1, >10 D/cm² for SSSB2 and >15 D/cm² for SSSB1+2.

Sattler and colleagues (25) recently proposed confocal laser scanning microscopy for the measurement of Dd. To compare the results of their study with ours, we converted the Dds expressed “per 8×8 mm” and “per 5×5 mm” by these authors into D/cm^2 . Using this crude estimation, 258.4 and 376.8 D/cm^2 , respectively, would have been found in their PPR patients and 54.2 and 89.6 D/cm^2 in their control patients (25). The values they observed in rosacea are comparable with our values for SSSB1+2 ($298.5 \pm 19.4 D/cm^2$ for PPR), suggesting that the depth analysed by 2 consecutive SSSBs may be roughly equivalent to the depth analysed by confocal laser microscopy. This also explains why their measured Dds were much higher than those measured previously with only one SSSB. Indeed, our present study shows that the mean SSSB2 was approximately twice the mean SSSB1, suggesting that the majority of the *D. folliculorum* are located deep in the skin.

By contrast, the mean Dds in their control group far exceeded the values we found. The mean Dds of our healthy controls were very low, even after treating the skin with ether and performing 2 SSSBs, confirming previous findings (18, 21–24, 41–45). This apparent discrepancy probably results from a difference in the selection of the healthy controls. In the present study, we took care not

to include patients with pityriasis folliculorum in our healthy controls, a condition that can be very discrete and difficult to identify (7–9, 11).

Confocal laser scanning microscopy requires expensive equipment that is not available to all dermatologists and this technique cannot therefore be proposed as a diagnostic tool in routine daily practice (46). Nevertheless, comparison with our dual SSSB procedure would be interesting and this non-invasive technique should be further investigated, especially for studying Dds in the scalp, where SSSB is not indicated (because of associated pain and the need for prior shaving).

None of our other facial dermatoses subgroups had higher mean Dds than the healthy controls, corroborating prior observations showing low Demodex prevalence (47, 48) or density (41) in lupus erythematosus compared with PPR; low prevalence (13, 49–51) and normal Dd (8, 41, 42) in acne vulgaris; no association between presence of Demodex and seborrhoeic dermatitis or atopic dermatitis (52); normal Dds in contact dermatitis (8); no Demodex in the skin or eyelashes of patients with seborrhoeic dermatitis or acne vulgaris contrary to those with rosacea (53); and lower Dds in eyelashes in patients with greasy scales than in those with cylindrical dandruff (54). These observations suggest that Demodex

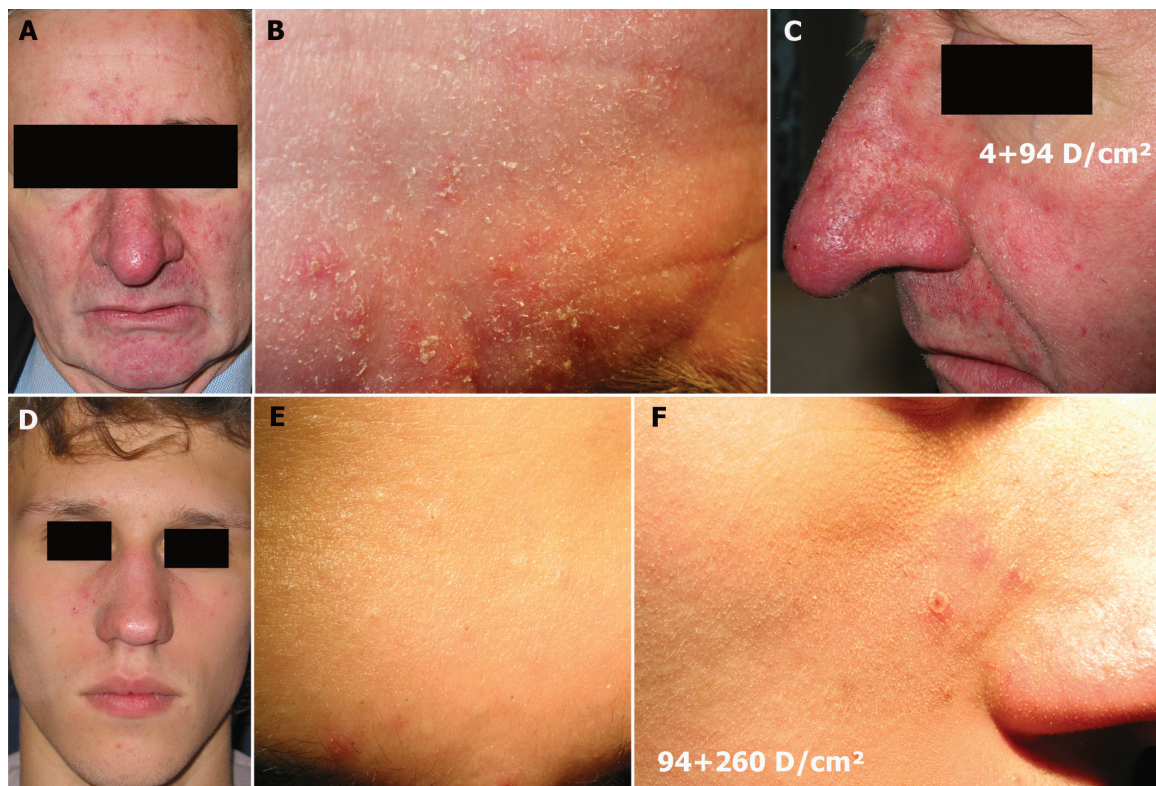


Fig. 4. Demodicosis and rosacea can be associated with seborrhoeic dermatitis and/or acne vulgaris, and are therefore often underdiagnosed. Here we show 2 clinical examples in which 2 successive standardized skin surface biopsies (SSSB1+SSSB2 values) enabled confirmation of diagnosis during the consultation. (A–C) A 58-year-old man with seborrhoeic dermatitis associated with papulopustular rosacea (PPR) and rhinophyma. (B) Forehead with follicular and non-follicular scales and pustules. (C) Nose and left cheek showing telangiectasia, papules and scales involving the naso-labial folds. In this patient, the SSSB1 value is inside normal limits, but the SSSB2 confirms a diagnosis of PPR in addition to the seborrhoeic dermatitis. (D–F) A 17-year-old man with acne vulgaris associated with PPR. (E) Forehead showing comedones. (F) Right cheek showing papulopustules and follicular scales. Both the SSSB1 and SSSB2 values confirm a diagnosis of PPR in addition to the acne vulgaris.

proliferates only in PPR and demodicosis and not in other dermatoses, supporting our hypothesis of a causal relationship in which Demodex drives the inflammatory response: its proliferation is not just an epiphenomenon occurring as a result of an inflammatory process (11, 19).

Although high Dds have been observed in some studies in patients with acne vulgaris (9, 34) seborrhoeic dermatitis (8, 31) or irritation dermatitis (8), it is likely that these patients had undiagnosed pityriasis folliculorum or associated demodicosis. Indeed, dermatologists rarely diagnose demodicosis (7–9) and, moreover, acne vulgaris, seborrhoeic dermatitis and demodicosis fairly commonly occur together in the same patient (Table SIII¹, Fig. 4) (2–6, 8–11, 52, 55). We have observed in clinical practice that seborrhoeic dermatitis only becomes apparent after normalization of the Dd. Although this observation has to be confirmed, this may suggest that *Malassezia* and Demodex compete, and that when Demodex disappears, *Malassezia* can proliferate more easily. Demodex may, therefore, not be an aetiological factor in seborrhoeic dermatitis, as suggested by Karincaglu et al. (31), but rather may benefit from the same favourable environment. Indeed, sebaceous hyperplasia, which favours seborrhoeic dermatitis and acne vulgaris, may also create better living conditions for the Demodex mite (9, 11, 19, 55, 56). Thus, while a high Dd confirms a diagnosis of PPR or demodicosis, it does not exclude the presence of another dermatosis.

In conclusion, our study confirms that high Dds are associated with demodicosis and PRR, while low Dds are found in the skin of healthy subjects and of patients with other facial dermatoses. Although the role of Demodex is not yet established in rosacea and demodicosis, our study suggests that high Dds, measured using the improved sampling method presented, could be a valuable diagnostic tool for all dermatologists in routine clinical practice.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank M. Parmentier, V. del Marmol and C. Verhoeven, for their constructive remarks; K. Pickett and P. Strong for proofreading; our patients for agreeing to participate in the study and allowing us to publish their photographs; and all the medical doctors and dermatologists who regularly entrust us with rosacea patients.

FMNF occasionally works as a consultant for Galderma. VdM declares no conflict of interest.

REFERENCES

- Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1989; 69: 419–423.
- Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odum R, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 584–587.
- Forton F, Germaux MA, Bresseur T, De Liever A, Laporte M, Mathys C, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 74–87.
- Powell FC. Clinical practice. Rosacea. *N Engl J Med* 2005; 352: 793–803.
- McFalda WL, Roebuck HL. Rational management of papulopustular rosacea with concomitant facial seborrhoeic dermatitis: a case report. *J Clin Aesthet Dermatol* 2011; 4: 40–42.
- Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC, Patsouris E, Agapitos E. Rosacea: a clinicopathological approach. *Dermatology* 2004; 209: 177–182.
- Hsu CK, Hsu MM, Lee JY. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60: 453–462.
- Zhao Y, Peng Y, Wang XL, Wu LP, Wang M, Yan HL, et al. Facial dermatosis associated with Demodex: a case-control study. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12: 1008–1015.
- Zhao YE, Hu L, Wu LP, Ma JX. A meta-analysis of association between acne vulgaris and Demodex infestation. *J Zhejiang Univ Sci B* 2012; 13: 192–202.
- Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; 170: 1219–1225.
- Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC, Stene JJ, Bresseur TV, Mathys CL, et al. Demodicosis: descriptive classification and status of rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; 29: 829–832.
- Baima B, Sticherling M. Demodicidosis revisited. *Acta Derm Venereol* 2002; 82: 3–6.
- Ayres S Jr, Ayres S. III. Demodectic eruptions (Demodicosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; 83: 816–827.
- Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Dermatol Syph* 1930; 21: 19–24.
- Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with Demodex folliculorum. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 1159–1162.
- Seifert HW. Demodex folliculorum als Ursache eines solitären tuberkuloiden Granuloms. *Z Hautkr* 1978; 53: 540–542.
- Kim JH, Chun YS, Kim JC. Clinical and immunological responses in ocular demodicosis. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1231–1237.
- Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; 128: 650–659.
- Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26: 19–28.
- Chen WC, Plewig G. Are Demodex mites principal, conspirator, accomplice, witness or bystander in the cause of rosacea? *Am J Clin Dermatol* 2015; 16: 67–72.
- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 443–448.
- Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997; 27: 183–195.
- Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; 37: 421–425.
- El Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Abdel Aaty HE. The pathogenesis of Demodex folliculorum (hair follicular mites) in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 2001; 31: 867–875.
- Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, Ruzicka T, Berking C. Non-invasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012; 62: 1050–1052.
- Casas C, Paul C, Lahfa M, Livideanu B, Lejeune O, Alvarez-Georges S, et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; 21: 906–910.
- Zhao Ya, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; 146: 896–902.
- Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T, Roszkiewicz J, Berth-Jones J, Peirone MH, et al. Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol* 2015; 172: 1103–1110.
- Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors.

- J Am Acad Dermatol 2015; 72: 749–758.
30. Marks R, Dawber RPR. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; 84: 117–123.
 31. Karıncaoglu Y, Tepe B, Kalayci B, Atambay M, Seyhan M. Is *Demodex folliculorum* an aetiological factor in seborrhoeic dermatitis? *Clin Exp Dermatol* 2009; 34: e516–520.
 32. Aydingöz IE, Dervent B. *Demodex folliculorum* in renal transplant patients revisited. *Dermatology* 2001; 203: 272–273.
 33. Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for measurement of the density of *Demodex folliculorum*: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. *Br J Dermatol* 2010; 62: 1124–1126.
 34. Abdel-Badie Salem D, El-shazly A, Nabih N, El-Bayoumy Y, Saleh S. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of *Demodex folliculorum*. *Int J Infect Dis* 2013; 17:e343–347.
 35. Seyhan ME, Karıncaoglu Y, Bayram N, Aycan O, Kuku I. Density of *Demodex folliculorum* in haematological malignancies. *Int Med Res* 2004; 32: 411–415.
 36. Dolenc-Voljc M, Pohar M, Lunder T. Density of *Demodex folliculorum* in perioral dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2005; 85: 211–215.
 37. Lacey N, Russell-Hallinan A, Powell FC. Study of *Demodex* mites: challenges and solutions. *J Eur Acad Derm Venereol* 2016; 30: 764–775.
 38. Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of *Demodex folliculorum*. A case report. *Br J Dermatol* 1998; 139: 697–700.
 39. Kligman AM, Christensen MS. *Demodex folliculorum*: requirements for understanding its role in human skin disease. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 8–10.
 40. Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of *Demodex* mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog* 2014; 71–72: 37–40.
 41. Lazaridou E, Apalla Z, Sotiraki S, Ziakas NG, Fotiadou C, Ioannides D. Clinical and laboratory study of rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24: 410–414.
 42. Okay P, Ertabaklar H, Savk E, Erfug S. Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: relation with sociodemographic/hygienic factors and acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; 20: 474–476.
 43. Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu AK, Harman M, Alp S, Bahceci S. Is *Demodex folliculorum* larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16: 539–541.
 44. Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. *Demodex folliculorum* in renal transplant patients. *Dermatology* 1997; 195: 232–234.
 45. Aydingöz IE, Dervent B, Güney O. *Demodex folliculorum* in pregnancy. *Int J Dermatol* 2000; 39: 743–745.
 46. Lacey N, Forton FM, Powell FC. *Demodex* quantification methods: limitations of confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2013; 169: 212–213.
 47. Perrigouard C, Peltre B, Cribier B. A histological and immunohistological study of vascular and inflammatory changes in rosacea. *Ann Dermatol Venereol* 2013; 140: 21–29.
 48. Brown TT, Choi EY, Thomas DG, Hristov AC, Chan MP. Comparative analysis of rosacea and cutaneous lupus erythematosus: histopathologic features, T-cell subsets, and plasmacytoid dendritic cells. *J Am Acad Dermatol* 2014; 71: 1000–1007.
 49. Skrlin J, Richter B, Basta-Juzbasic A, Matica B, Ivacić B, Cvrlje M, et al. Demodicosis and rosacea [letter]. *Lancet* 1991; 337: 734.
 50. Hojyo T, Dominguez L. Demodicosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cutan Ibero Lat Am* 1976; 2: 83–90.
 51. Ayres S Jr, Anderson NP. *Demodex folliculorum*: its role on the etiology of acne rosacea. *Arch Derm Syph* 1932; 25: 89–98.
 52. Tehrani S, Tizmaghz A, Shabestanipour G. The *Demodex* mites and their relation with seborrheic and atopic dermatitis. *Asian Pac J Trop Med* 2014; 7: S82–84.
 53. Morgan RJ, Coston TO. *Demodex blepharitis*. *South Med J* 1964; 57: 694–699.
 54. Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, Liu DT, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, et al. High prevalence of *Demodex* in eyelashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3089–3094.
 55. Zhao YaE, Guo N, Xun M, Xu JR, Wang M, Wang DL. Socio-demographic characteristics and risk factor analysis of *Demodex* infestation (Acari: Demodicidae). *J Zhejiang Univ-Sci B* 2011; 12: 998–1007.
 56. Porta Guardia CA. *Demodex folliculorum*: its association with oily skin surface rather than rosacea lesions. *Int J Dermatol* 2015; 54: e14–17.

4.2.3.2. Fichiers supplémentaires joints pour l'internet

4.2.3.2. A. Vidéo

Cette vidéo montre la technique de prélèvement afin de familiariser les dermatologues avec la technique de prélèvement :

<https://www.youtube.com/watch?v=4D8DrZArgRg>

4.2.3.2. B. Figure supplémentaire

Fig S1. Un léger saignement peut apparaître exceptionnellement après la biopsie de surface standardisée.



4.2.3.2. C. Tableaux supplémentaires

Tableau SI. Age et sexe des 1044 patients inclus

Clinical groups	Patients			
	n	Age (years old) mean \pm SEM	Min - Max	Women n (%)
Healthy controls	20	43.4 \pm 4.2	17.2 - 82.8	18 (90)
Other dermatoses	180	35.8 \pm 0.9	11.1 - 81.2	132 (73.3)
Demodex -	200	36.5 \pm 0.9	11.1 - 82.8	150 (75)
PPR-suggestive ^a	254	47.6 \pm 0.9	8.0 - 98.3	186 (73.2)
Demodicosis	590	46.1 \pm 0.6	7.4 - 90.5	376 (63.7)
Demodex +	844	46.5 \pm 0.5	7.4 - 98.3	562 (66.6)
All patients	1044	44.6 \pm 0.5	7.4 - 98.3	712 (68.2)

^a: Among the sub group "typical PPR" (n= 215), age was 48.2 \pm 1.0 years old (range: 16.2-98.3), and 158 (73.5%) were women.

Table SII. Densités en Demodex des patients Demodex+ selon les dermatoses associées.

Dermatoses associated with "Demodex +"	Patients n (%)	SSSB 1	SSSB 2	SSSB 1+2
		mean ± SEM	mean ± SEM	mean ± SEM
NONE (isolated "Demodex +")	647 (76.7)	85.9 ± 4.2	186.7 ± 7.5	272.5 ± 10.3
Seborrheic dermatitis only	134 (15.9)	74.6 ± 8.2	152.3 ± 13.8	226.9 ± 19.5
Acne vulgaris only	31 (3.7)	89.0 ± 23.5	175.2 ± 33.1	264.2 ± 48.3
Seborrheic dermatitis AND acne vulgaris	16 (1.9)	95.3 ± 36.0	123.7 ± 42.4	219.0 ± 72.5
Other dermatoses ^a	16 (1.9)	59.4 ± 16.5	189.6 ± 78.5	249.1 ± 88.8

^a : the group "other dermatoses" included 3 patients with both psoriasis and seborrheic dermatitis, one of whom also had acne vulgaris.

SSSB1, SSSB2 and SSSB1+2 Dd values were not significantly different in the 5 subgroups (p values: 0.688 for SSSB1; 0.204 for SSSB2, and 0.293 for SSSB1+2).

Table SIII. Densités en Demodex des patients avec dermatite séborrhéique ou acné vulgaire selon les dermatoses qui y sont associées : la densité est élevée uniquement s'il y a une démodicose ou PPR suggestive associée (Demodex+ only).

Dermatoses associated with:	Patients		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
	n	%	mean ± SEM	p	mean ± SEM	p	mean ± SEM	p
a. seborrheic dermatitis								
NONE (isolated SD)	33	19.0	0.5 ± 0.2		1.8 ± 0.5		2.2 ± 0.6	
Demodex+ only	134	77.0	74.6 ± 8.2	<0.001	152.3 ± 13.8	<0.001	226.9 ± 19.5	<0.001
other dermatosis (not Demodex+)	7	4.0	0.1 ± .14		0.7 ± 0.7		0.9 ± 0.9	
seborrheic dermatitis All *	174	100.0	60.4 ± 6.8		119.0 ± 11.1		179.4 ± 16.2	
b. acne vulgaris								
NONE (isolated acne vulgaris)	70	64.2	0.3 ± 0.1		0.9 ± 0.3		1.2 ± 0.4	
Demodex+ only	31	28.4	89.0 ± 23.5	<0.001	175.2 ± 33.1	<0.001	264.2 ± 48.3	<0.001
other dermatosis (not Demodex+)	8	7.3	0.4 ± 0.2		2.6 ± 1.5		3.0 ± 1.7	
acne vulgaris All **	109	100.0	25.52 ± 7.6		50.6 ± 12.0		76.14 ± 17.7	

*: 4 patients with seborrheic dermatitis and Demodex+ and ALSO another dermatosis were not considered in this Table.

** : 2 patients with acne vulgaris and Demodex+ and ALSO another dermatosis are not considered in this Table.

Demodex+ = PPR-suggestive or demodicosis

4.2.3.3. RPP avec densité normale en Demodex : faux négatif ?

La combinaison des valeurs « cut-off » optimales des deux SSSBs consécutives a permis d'obtenir un critère diagnostique global : « **SSSB1 > 5 Demodex/cm² OU SSSB2 > 10 Demodex/cm²** » pour confirmer un diagnostic clinique de rosacée ou de démodécie avec une sensibilité de 98,7% et une spécificité de 95,5%, ce qui en fait un outil précieux dans la pratique clinique courante des dermatologues. La sensibilité du test est beaucoup plus élevée qu'avec une seule SSSB : nous avons maintenant un outil qui analyse une **plus grande partie du biotope du parasite** (une surface de 1 cm² et une profondeur suffisante du contenu des infundibulums).

Avec ce test amélioré, nous avons observé que **les RPPs typiques avec densité normale en Demodex étaient exceptionnelles** (seulement 1,4%). Celles-ci correspondent probablement à des faux négatifs. Ces faux négatifs pourraient être liés à un défaut occasionnel de prélèvement, comme pour tous les tests en biologie, ou aux limites de la technique. Ils pourraient correspondre à des RPPs associées exclusivement à *D brevis* ou à des *D folliculorum* profondément situés, qui ne sont que rarement recueillis par les SSSBs, ou à des Demodex ayant pénétré dans le derme.⁴⁹ Une biopsie classique, sanglante, ou une troisième SSSB, ou l'extirpation du contenu d'une pustule profonde révèle la présence de ces parasites non détectés à la double SSSB (observations personnelles (Fig. 88) et rapporté aussi par Kligman et Christensen).⁵⁴⁰

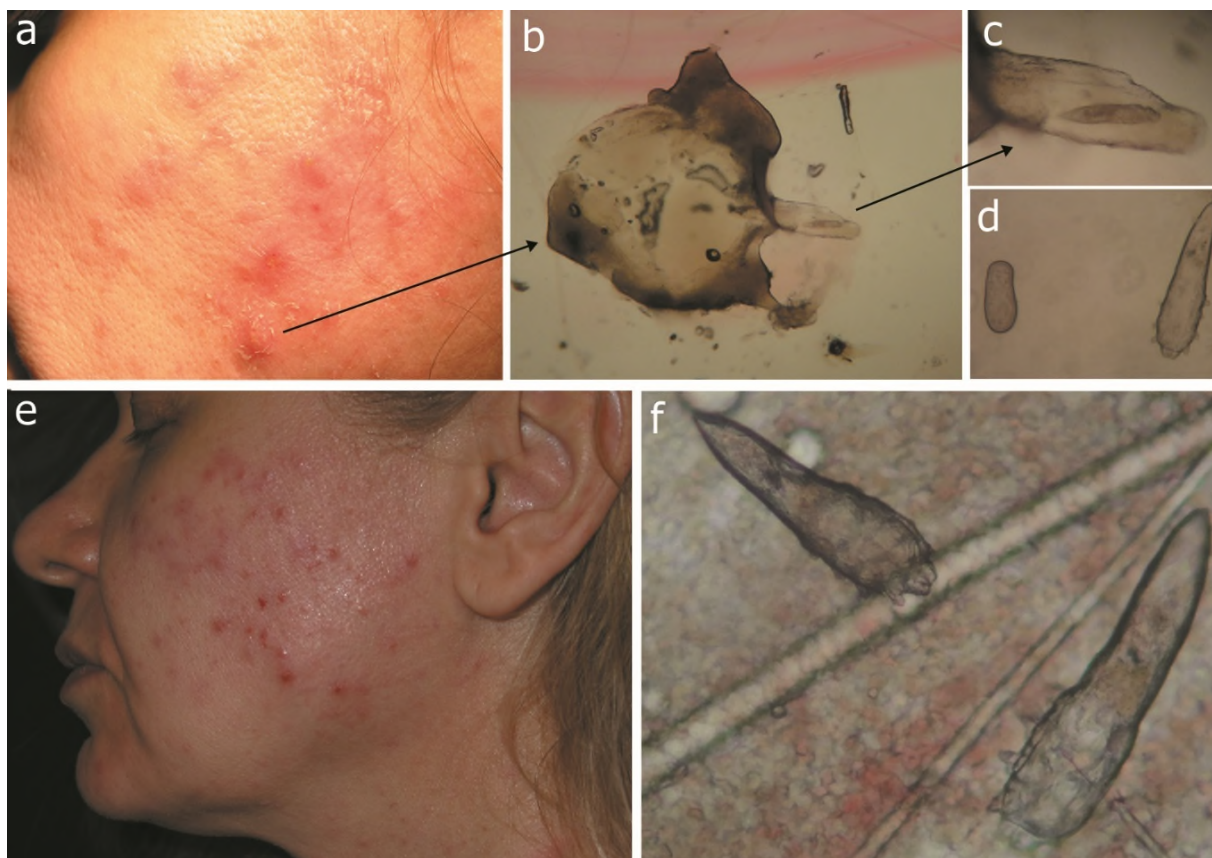


Fig. 88. Cas clinique suggérant que les exceptionnelles démodécies/rosacées avec densité normale en Demodex avec notre test sont probablement dues à de faux négatifs, liés à la prolifération de Demodex plus en profondeur (*D brevis* ou *D folliculorum* phénotype court).

Patiente présentant une démodécie à *D brevis* avec densité en Demodex normale à la double SSSB, contrôlée au cours de plusieurs consultations. Un seul *D brevis* au niveau d'une pustule a finalement été détecté par une 3° SSSB (qui prélève donc les Demodex encore plus profondément situés).

(a) : joue gauche, avec la pustule profonde au départ de la flèche ;

(b) : contenu de la pustule visualisé au microscope sur la 3°SSSB ;

(c) : agrandissement du *D brevis* détecté. Et quand nous avons alors vidé la partie restante de la pustule, en pinçant la peau, nous y avons trouvé 6 *D brevis* supplémentaires :

(d) : un adulte (*D folliculorum* forme courte ? *D brevis* ?) et 1 embryon de *D brevis*.

Cet examen a été répété à plusieurs reprises avec un résultat similaire, au cours d'un cheminement thérapeutique difficile ; par exemple :

(e) après 3 semaines de BB 20% topique, les pustules avaient disparu mais les papules s'étaient multipliées, correspondant vraisemblablement à des pustules profondes à *D brevis* ;

(f) : 1 pustule a été ouverte au scalpel et a montré **5 Demodex** : des *D brevis* (un à gauche sur la photo : extrémité pointue) et probablement un *D folliculorum* phénotype court (au vu de l'extrémité arrondie de l'opisthosme)³² à droite sur la photo. Seule l'isotrétinoïne per os a finalement permis de guérir la patiente.

Description détaillée de ce cas clinique :

- 13/01/2010 : La patiente, âgée de 43 ans présentait un tableau clinique initial d'acné vulgaire papulopustuleuse (avec microkystes et comédons) mais atypique, évoquant une association avec une démodécie (au début, des eczématides folliculaires, puis une rosacée papulopustuleuse). Une double SSSB a été effectuée à deux reprises sur la joue droite sans mettre une haute Dd en évidence (en janvier 2010 : 2+0 D/cm², en août 2010 : 0+0 D/cm²). La patiente a donc reçu des traitements d'acné (zinc per os et local, lymecycline per os, clindamycine topique, et devant l'inefficacité des traitements, de l'isotrétinoïne 10-20 mg/j) jusqu'en juin 2011.
- (a) : Un an plus tard, le 12/06/2012, son éruption a récidivé sur la **joue gauche** : la clinique évoquait encore beaucoup plus une RPP, car il n'y avait plus de comédons ni de microkystes. La double SSSB montrait 0+0 D/cm². Une troisième SSSB a alors été effectuée et a mis en évidence **1 D brevis** au niveau d'une pustule (b, c= agrandissement de (b)). La pustule a alors été pressée et son contenu a révélé la présence de **6 D brevis**, tous immobiles : (d) : 1 *D brevis* (ou *D folliculorum* forme courte) avec un embryon de *D brevis*). Le frottis bactériologique est revenu négatif.
- (e) : Le 06/07/2012, après 3 semaines de BB 20% topique, les pustules avaient disparu mais les papules s'étaient multipliées, correspondant vraisemblablement à des pustules profondes à *D brevis*. L'isotrétinoïne per os a été repris (10 mg/j), a donné des résultats encourageants, mais la patiente ne l'a pas supporté et a arrêté spontanément fin 2012.
- Fin janvier 2013, elle présentait à nouveau 2 pustules, mais sur la **joue droite** cette fois, et la SSSB était toujours négative (0+0 D/cm²) tandis que l'expression d'une pustule ramène à nouveau **2 D brevis**. Elle a reçu de l'ivermectine per os (2 cures de 2 jours à 1 semaine d'intervalle (2 Co de 3 mg 2x/j pendant 2 jours)) qui a amélioré la clinique et, un mois plus tard, en mars 2013, le relais a été donné par BB 24% le soir.
- Mais, en avril 2013, elle a à nouveau présenté des papulopustules : (f) : 1 pustule a été ouverte au scalpel et a montré **5 Demodex** : des **D brevis** (un à gauche sur la photo : extrémité pointue) et probablement un **D folliculorum** phénotype court au vu de l'extrémité arrondie de l'opisthosme³² (à droite sur la photo). Une crème à base de perméthrine 5% a été rajoutée le matin. Deux semaines plus tard, il n'y avait aucune amélioration, tandis que l'expression d'une pustule ramenait **4 D brevis**. Elle a alors reçu un traitement à base de TTO.
- Fin mai 2013, devant un résultat mitigé, la patiente a demandé à reprendre l'isotrétinoïne, et l'a relativement bien supporté : après ingestion de 6250 mg (elle pesait 68 kgs), la guérison clinique est obtenue le 17/08/2015, et un traitement d'entretien de 10 mg/j 2x/sem a été donné et pris jusque début 2016.
- En janvier 2019, elle a consulté pour un autre problème et sa démodécie n'était pas réapparue.

4.2.3.4. Rosacée, démodécies, dermatite séborrhéique et acné vulgaire

En outre, parmi les 844 patients du groupe Demodex+, nous avons montré que les Dds moyennes n'étaient pas influencées par la présence d'une autre dermatose faciale et en corollaire, que les patients atteints de dermatite séborrhéique ou d'acné vulgaire n'avaient une Dd élevée que s'ils souffraient également de démodécie ou PPR-suggestive. Un résultat positif confirme donc le diagnostic clinique de PPR-suggestive ou de démodécie, mais il n'exclut pas une autre pathologie associée.

Nous remarquons que **près d'un patient sur cinq atteint de PPR-suggestive ou de démodécie a également une dermatite séborrhéique** : 16% ont une dermatite séborrhéique, 4% une acné vulgaire associée, et 2% ces 2 dernières en même temps. Les associations entre rosacée, acné et dermatite séborrhéique, déjà connues,^{40,110,111,128,129,211,225,321,371,372} sont confirmées par notre étude et ont encore été corroborées depuis par deux études récentes : (1) la première retrouve une SSSB1 > 5 D/cm² chez 79% des rosacées avec papulopustules, 51% des dermatites séborrhéiques et 28% des patients avec acné papulopustuleuses ;⁵⁴¹(2) la seconde analyse 5166 patients avec dermatite séborrhéique en Allemagne : 4% avaient aussi une rosacée et 4% une acné. Les comorbidités dermatologiques les plus fréquentes étaient infectieuses : 17% avaient une folliculite, 9% une onychomycose, 7,1% un tinea pedis.⁵⁶⁸ Ces observations suggèrent un **terrain favorable commun** : un terrain immunologique ou/et de **grosses glandes sébacées** pourraient effectivement favoriser la pullulation à la fois du *Malassezia furfur*, du *Cutibacterium acnes*, et des *D folliculorum* et *brevis*. Dans la peau riche en glandes sébacées, règne une immunotolérance (par rapport à la peau pauvre en glande sébacée) qui pourrait expliquer leur prolifération.³⁵⁵

Par ailleurs, nous avons observé à de nombreuses reprises que des dermatites séborrhéiques apparaissaient sur le visage des patients après guérison de leur démodécie/RPP, suggérant que la dermatite séborrhéique était masquée par la démodécie, ou qu'une fois que les Demodex sont en nombre plus restreint, le *Malassezia furfur* pourrait peut-être plus facilement proliférer : dans ce cas, cela signifierait qu'il pourrait y avoir une **compétition entre ces micro-organismes** au sein des follicules pilosébacés.

4.2.3.5. Utilisations ultérieures par d'autres auteurs

Depuis, d'autres auteurs ont utilisé la double SSSB mais en additionnant d'emblée les 2 couches.

En 2016, Raoufinejad *et al*, trouvent des SSSB1+2 médianes de **218 et 274 D/cm²** respectivement sur chacune des 2 joues de ses 20 patients atteints de RPP (qu'ils utilisent en aveugle pour comparer un traitement par perméthrine avec le placebo).²⁸³

En 2017, Schaller *et al* simplifient arbitrairement notre critère en utilisant une valeur seuil de 15 D/cm² pour SSSB1+2 et trouvent une SSSB1+2 moyenne de **100** D/cm² (déviation standard=17) chez 20 patients avec RPP : 106 D/cm² pour les patients avec IGA3 et de 82 D/cm² pour les patients IGA4.²⁹⁰ A titre de comparaison, nous avons une SSSB1+2 moyenne de **299±19** D/cm² pour nos 215 patients avec RPP (avec érythème persistant).²¹²

Après avoir fourni un test qui permet de confirmer un diagnostic clinique de rosacée et de démodécie, nous avons voulu mettre en évidence les signes cliniques qui pourraient inciter les dermatologues à penser à ces diagnostics et donc à pratiquer ce test, afin d'améliorer leurs performances diagnostiques et ainsi le traitement des patients. Nous avons donc étudié les symptômes cliniques des patients du groupe Demodex+ (§ 4.2.4.).

4.2.4. Signes et symptômes ⁵⁶⁴

En consultation, nous nous sommes rendue compte que, en plus des signes cliniques bien connus de la RPP, de nombreux patients présentaient d'autres signes, beaucoup moins connus, et même inconnus, qui, pourtant, pourraient grandement aider le dermatologue à faire un diagnostic clinique quand il est confronté à un cas difficile.

Le but de ce travail est d'objectiver cette constatation clinique, afin que ces caractéristiques soient reconnues comme indicateurs diagnostiques utiles non seulement de la démodécie, mais aussi de la rosacée : les écailles folliculaires et le prurit. Par ailleurs, comme nous soutenons la thèse du rôle du Demodex dans la rosacée, c'est-à-dire que les démodécies et la RPP font partie d'un même processus pathogénique, nous avons aussi comparé la prévalence des symptômes d'une part entre les groupes de PPR-suggestives et de démodécies, et d'autre part, au sein des PPR-suggestives, entre rosacées avec et sans érythème persistant. Pour rappel, nous avons formé un **sous-groupe A**, rassemblant les patients collectés à partir du moment où nous avons collecté systématiquement la présence éventuelle de symptômes au niveau du cuir chevelu (§ 4.1.2.3. D.) et un **sous-groupe B**, rassemblant les **patients** qui n'avaient pas reçu de traitement récent (au cours des 3 derniers mois) et n'avaient aucune autre dermatose faciale (§ 4.1.2.3. E.) (Tableau 15).

Clinical diagnosis	n
PPR-suggestive	133
with persistent erythema	120
without persistent erythema	12
granulomatous rosacea	1
Demodicosis	357
pityriasis folliculorum	261
follicular eczematids	56
folliculitis	26
pigmentation	11
isolated inflammatory papule	3
Subgroup B (all)	490

Tableau 15. Diagnostics des patients dans le sous-groupe B, sans traitement récent et sans autre dermatose faciale associée.

L'article est en libre accès sur internet :

<https://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.2340/00015555-3041>

Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms

Fabienne M. N. FORTON¹ and Viviane DE MAERTELAER²

¹Dermatology Clinic, and ²Institute of Interdisciplinary Research in Molecular Biology, Biostatistics Department, Université libre de Bruxelles, ULB, Brussels, Belgium

Papulopustular rosacea and demodicosis are characterized by non-specific symptoms, which can make clinical diagnosis difficult. This retrospective study of 844 patients assessed the diagnostic importance of clinical signs and symptoms that are poorly recognized as being associated with these conditions. In addition to well-known signs (vascular signs (present in 80% of patients), papules (39%), pustules (22%) and ocular involvement (21%)), other signs and symptoms (discreet follicular scales (93%), scalp symptoms (pruritus, dandruff or folliculitis; 38%) and pruritus (15%)) may also suggest a diagnosis not only of demodicosis, but also of papulopustular rosacea. Facial Demodex densities (measured by 2 consecutive standardized skin biopsies) were higher when ocular or scalp involvement was present, suggesting more advanced disease, but further investigations are needed to confirm this hypothesis. Recognition of these clinical signs and symptoms should encourage dermatologists to perform a Demodex density test, thus enabling appropriate diagnosis to be made.

Key words: Demodex; rosacea; demodicosis; scalp; dandruff; pruritus.

Accepted Sep 18, 2018; Epub ahead of print Sep 18, 2018

Acta Derm Venereol 2019; 99: 47–52.

Corr: Fabienne Forton, Dermatology Clinic, rue Frans Binjé, 8, BE-1030 Brussels, Belgium. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Papulopustular rosacea (PPR) and demodicosis are common skin conditions with non-specific signs and symptoms (1–3). PPR is characterized mainly by central face distribution of persistent erythema and papulopustules (1, 2) (Fig. 1). Most cases of demodicosis are pityriasis folliculorum (Fig. 2) or rosacea-like demodicosis (3–7), this being considered by some authors as the same disease as PPR (8–11). Less frequently, demodicosis can manifest as folliculitis or abscesses (3, 12–15), hyperpigmentation (3, 5, 16), follicular eczematids (defined as erythema, dilated pores, granular skin, some papules and non-follicular scales) (3), isolated inflammatory papules (3, 17), and ocular demodicosis (5, 16, 18–29).

SIGNIFICANCE

Papulopustular rosacea and demodicosis are common facial skin conditions that can be difficult to diagnose clinically. In addition to well-known clinical signs, such as vascular signs and papules, in our study of patients with known papulopustular rosacea or demodicosis, we showed that other clinical signs (discreet facial follicular scales, dandruff, folliculitis on the scalp, facial or scalp pruritus) are also frequently present. Presence of these signs and symptoms should therefore encourage dermatologists to perform further diagnostic tests (e.g., the recently described test based on the high density of Demodex mites observed in these conditions), to ensure accurate diagnosis.

The diagnosis of PPR and demodicosis from clinical signs alone can be difficult, but can be confirmed using a new diagnostic test (30) based on the high skin Demodex density (Dd) in these patients (30–36). In addition to well-known clinical signs, many patients with PPR

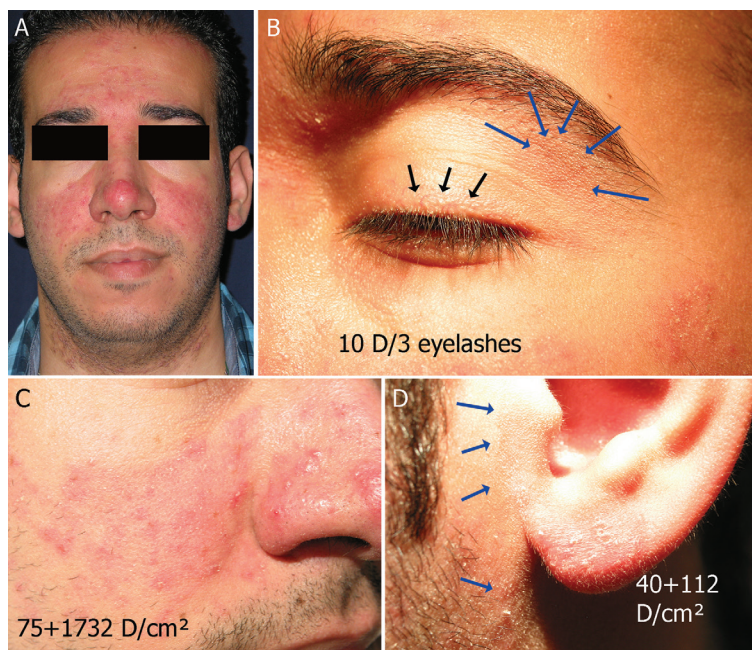


Fig. 1. A 25-year old man with papulopustular rosacea and extensive demodicosis involving the entire head. (A, C) Papulopustular rosacea on the face; (B) typical cylindrical dandruff at the base of the eyelashes (black arrows); (B, D) visible pityriasis folliculorum (blue arrows) on the upper left eyelid and on the pre-auricular zone; (D) papulopustular rosacea involving the left ear lobe. He also had dandruff on the scalp. SSSB1+SSSB2 values are indicated on the figure. Patient permission was obtained. This patient, seen recently, was not included in the study.

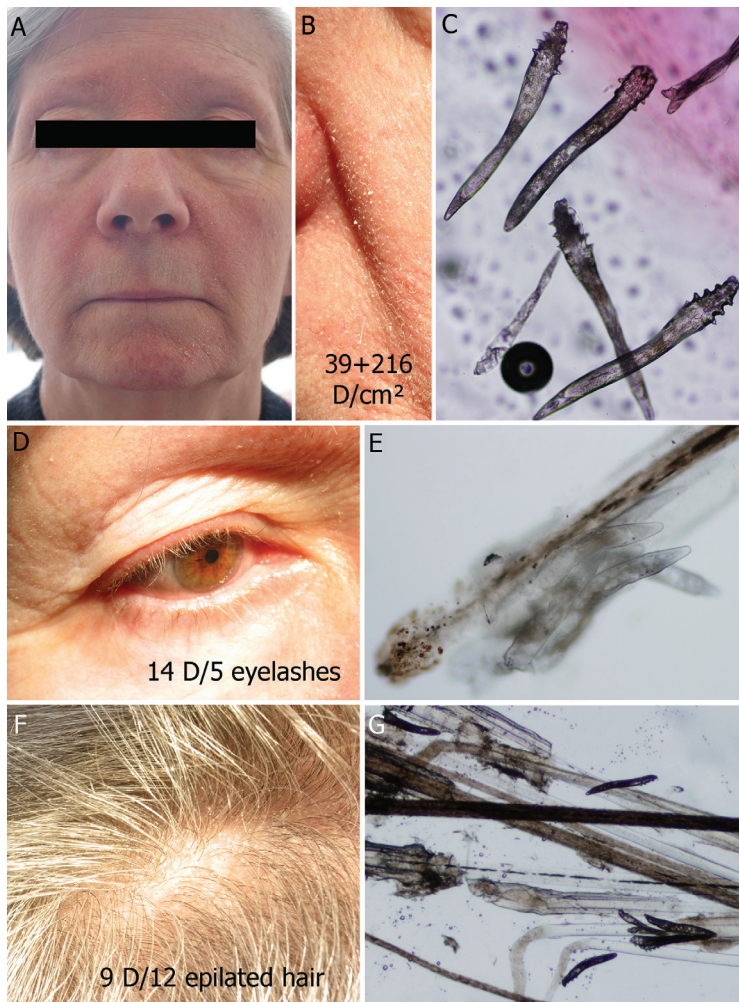


Fig. 2. A 70-year old woman with demodicosis of the whole head. (A, B) The facial skin shows pityriasis folliculorum and associated seborrheic dermatitis (*Malassezia furfur* +). SSSB1+SSSB2 values are indicated on the figure; (C) 7 of her *Demodex* mites free in immersion oil ($\times 100$). (D) The eyelids show cylindrical dandruff and blepharitis with 2.8 mites/eyelash; (E) ± 6 mites around one of her eyelashes ($\times 100$). (F) The scalp shows dandruff, which could also be related to her seborrheic dermatitis. Nevertheless, numerous mites were found on epilated hairs; (G) ± 8 mites on her epilated hairs ($\times 40$). Patient permission was obtained.

or demodicosis have other signs that are less frequently recognized as being associated with these conditions. Recognition of the possible role of these more discreet clinical signs could encourage dermatologists to assess the Dd, and thus improve diagnosis and treatment.

The present study therefore assessed the diagnostic importance of clinical signs and symptoms that are poorly recognized as being associated with PPR or demodicosis: follicular scales, scalp symptoms and pruritus. We hypothesized that these less obvious features may be useful diagnostic indicators not only of demodicosis, in which they are known to occur, but also of rosacea. This study also investigated the relationship of ocular involvement and scalp symptoms with Dds measured by 2 consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs).

METHODS

Patients

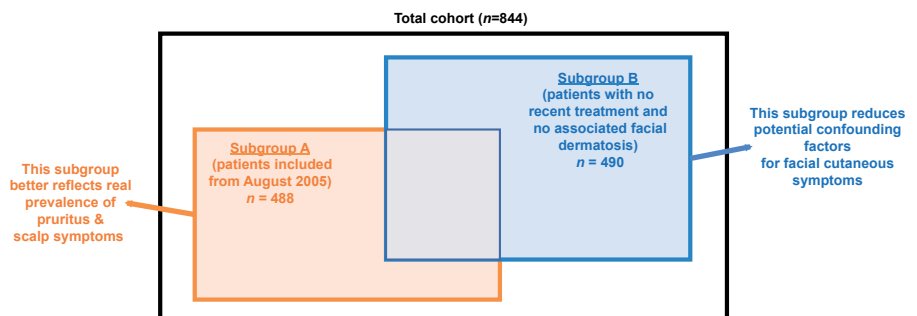
This retrospective study is an analysis of data obtained from 844 patients (254 patients with symptoms suggestive of PPR (i.e. rosacea with centro-facial papulopustules) (1) and 590 patients with demodicosis) who were included in a study to assess a new diagnostic test for rosacea and demodicosis (Table S1¹) (30). The 254 PPR-suggestive patients included 215 patients with PPR with persistent erythema (i.e., typical PPR according to the consensus of the National Rosacea Society (NRS) (1)), 27 with rosacea without persistent erythema, 7 with granulomatous rosacea and 5 with steroid-induced rosacea (30). The study was approved by the Erasme Hospital ethics committee.

For each patient, the date of consultation, age, sex, clinical diagnosis, symptoms, ocular involvement (cylindrical dandruff, blepharitis, conjunctivitis, chalazion), other potentially associated facial dermatoses (such as seborrheic dermatitis) and recent treatment for the facial condition were recorded. At the start of the data collection in 2002, the importance of scalp involvement (pruritus, folliculitis of the scalp or dandruff), especially in rosacea, was not realized and was not looked for specifically in these patients. From August 2005, however, we started to systematically look for scalp involvement and therefore analysed these patients separately (subgroup A, $n=488$). In addition, to limit the effect of confounding factors that could potentially

influence the cutaneous facial symptoms, we also studied these symptoms in a group of 490 patients (subgroup B) who had recei-

¹<https://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.2340/00015555-3041>

Fig. 3. Two subgroups were analysed separately. Subgroup A comprised patients included from August 2005 ($n=488$), the time-point at which we started looking specifically for possible scalp involvement in our patients. The prevalence of pruritus and scalp symptoms is likely better reflected in this group. Subgroup B comprised patients with no recent treatment and without an associated facial dermatosis ($n=490$). The aim of this subgroup was to study the signs and symptoms while avoiding these potential confounding factors. The 2 subgroups were not mutually exclusive; 267 patients were present in both groups.



ved no treatment during the 3 months prior to their consultation and had no other associated facial dermatoses (Fig. 3).

Sampling method

In all patients, 2 consecutive SSSBs were performed at the same place, collecting the 2 first layers of 1 cm² of the horny layer of the skin and of the follicular content. Full details of the method, including an online video, are available in an earlier publication (30).

The number of epilated lashes and the number of Demodex mites visualized on the lashes were also collected for patients with clinical ocular involvement (Fig. S1¹).

Statistical analysis

Continuous variables are summarized by means ± standard error of the mean (SEM) and qualitative variables by *n* (%).

Differences in continuous variables among groups were compared using analyses of covariance (ANCOVA), including age and sex as covariates, followed by Sidak tests for multiple comparisons if required. Differences in qualitative variables were compared among groups using Pearson exact χ^2 tests.

Statistical significance was considered when $p < 0.05$. All statistical tests were performed using IBM-SPSS (version 23.0 to 24.0) software (IBM Corp, Armonk, NY, USA).

RESULTS

The demographic data for the 844 patients have been reported previously (30).

The initial complaint was localized to the face in 805 patients (95%), the scalp in 22 (3%) and the eyes in 17 (2%). When the initial complaint was elsewhere than the face, clinical examination nevertheless generally revealed facial demodicosis ($n = 37/39$); the facial skin appeared healthy in only 2 patients. In 6 patients (0.7%), the initial complaint was subjective: feeling of dry skin ($n = 2$), sensitive skin ($n = 2$), cosmetic intolerance ($n = 1$), burning facial sensation ($n = 1$).

The prevalences of the signs and symptoms were similar in subgroups A and B to those in the whole cohort, except for pruritus, scalp symptoms and ocular involvement (Table SII¹).

Follicular scales and vascular symptoms

Follicular scales were observed more frequently than vascular symptoms in the total cohort (782/844 (93%)

vs. 677/844 (80%), $p < 0.001$) and in the 2 subgroups (Table SII¹).

In the total cohort of 844 patients, the presence of follicular scales was related to the presence of persistent erythema ($p = 0.020$), but not to the presence of flushes ($p = 0.497$). Concordance for the presence of follicular scales and vascular symptoms was 70% (565/844 had both signs, and 26/844 had neither).

In subgroup B ($n = 490$), the presence of follicular scales was not related to the presence of flushes ($p = 0.283$) nor to the presence of persistent erythema ($p = 0.060$). Concordance for the presence of follicular scales and vascular symptoms was 71% (336/490 had both signs and 13/490 had neither). The proportions of patients with follicular scales and with vascular symptoms differed according to the clinical diagnosis: vascular symptoms were more frequent in the PPR-suggestive group than in the demodicosis group; there was no significant difference in the frequency of follicular scales in these 2 groups or between the PPR-suggestive with and without persistent erythema groups (Table SIII¹).

Pruritus

In the total cohort, 130 (15%) patients had pruritus and 5 had excoriated facial prurigo (Fig. S2¹). Most of the patients with pruritus (117/130 (90%)) were observed among the 488 patients included from August 2005, giving a prevalence of 24% in this subgroup (Table I and Table SII¹): the pruritus was localized to the scalp in 106 patients (22%), to the face in 15 patients (3%) and to the eyes in 2 patients (0.4%); more than one site was affected in 5 patients.

Scalp involvement

In the total cohort, 321 (38%) patients had scalp symptoms, most of whom ($n = 244$) were in subgroup A, giving a prevalence of 50% in this subgroup (Table I and Table SII¹).

In this subgroup, the mean Dd in the facial skin tended to be higher when the patients had scalp symptoms than when they did not, but this difference was not statistically significant (Table SIV¹). For 2 patients with scalp symptoms, Dd samples were taken from the scalp: for 1,

Table I. Prevalence of follicular scales, pruritus, scalp symptoms and ocular involvement in subgroup A (patients included from August 2005)

Clinical diagnosis	<i>n</i>	Follicular scales		Pruritus		Scalp symptoms		Ocular involvement	
		<i>n</i> (%)	<i>p</i> -value	<i>n</i> (%)	<i>p</i> -value	<i>n</i> (%)	<i>p</i> -value	<i>n</i> (%)	<i>p</i> -value
PPR-suggestive:									
With persistent erythema	118	111 (94)	1.000	33 (28)	0.352	59 (50)	1.000	49 (42)	0.160
Without persistent erythema	15	14 (93)		2 (13)		8 (53)		3 (20)	
Granulomatous rosacea	5	5 (100)		1 (20)		1 (20)		2 (40)	
Steroid-induced rosacea	1	0 (0)		1 (100)		1 (100)		0 (0)	
PPR-suggestive (all)	139	130 (94)	1.000	37 (27)	0.412	69 (50)	1.000	54 (39)	0.003
Demodicosis	349	327 (94)		80 (23)		175 (50)		86 (25)	
Total	488	457 (94)		117 (24)		244 (50)		140 (29)	

PPR: papulopustular rosacea.

9 Demodex mites were observed on epilated hair (Fig. 2), for the other, the SSSB1 and SSSB2 were 24 and 25 D/cm², respectively, on the vertex.

In this subgroup, the presence of scalp symptoms and presence of an associated facial seborrhoeic dermatitis were related ($p < 0.001$). The total concordance was 58% (65/488 had both signs and 219/488 had neither).

Ocular involvement

In the total cohort, 180 (21%) patients had clinical ocular involvement (Table SIII¹, Fig. 2). The prevalence of ocular involvement was significantly higher in PPR-suggestive than in demodicosis patients (70/254 (28%) vs. 110/590 (19%), $p = 0.004$), but not significantly different in patients with PPR with and without persistent erythema (64/215 (30%) vs. 4/27 (15%), $p = 0.117$). Two of the 7 patients with granulomatous rosacea had ocular involvement.

The patients with ocular involvement had higher mean facial Dds than those without (Table SV¹). The eyelashes were analysed in 161 of the 180 patients with clinical ocular involvement and Demodex mites were found in the eyelashes in 147 patients (91%), giving an overall mean of 1.6 ± 0.1 Demodex mites/lash. There were no significant differences in the numbers of mites on the eyelashes according to age ($p = 0.337$) or sex ($p = 0.128$). There were no statistically significant differences in the mean number of mites/eyelash or in the facial skin Dds in the different subgroups of clinical ocular involvement (cylindrical dandruff, blepharitis, conjunctivitis, chalazion) (Tables SVI and SVII¹).

In subgroup A, 140 of the 488 patients (29%) had clinical ocular involvement (Table I) and these patients had a higher mean facial Dd than those without ocular involvement (Table SIV¹). In this subgroup A, ocular involvement and scalp symptoms were related ($p = 0.012$).

The concordance was 55% (83/488 of the patients had both signs and 187/488 had neither).

DISCUSSION

Follicular scales were the most frequent sign observed in our patients, occurring significantly more frequently than vascular symptoms. Scalp symptoms and pruritus were present, respectively, in 50% and 24% of the patients included from August 2005, when we started to systematically look for these symptoms (subgroup A). Follicular scales, scalp symptoms and pruritus were observed with the same frequency in demodicosis and rosacea, and in rosacea with or without persistent erythema. The mean Dd in the skin was higher when the eyelids or scalp were involved (although the latter finding was not statistically significant) and these 2 signs were often present together.

The high frequency of follicular scales in patients with PPR and with demodicosis is not surprising because they correspond to Demodex opisthosomas protruding at the follicular orifice (Fig. 4) and these patients are known to have very high Dds in their skin (30–36). Nevertheless, follicular scales have not been considered as a sign to suggest the diagnosis of rosacea. We showed that the presence of follicular scales was statistically related to the presence of persistent erythema, which is a diagnostic criterion for rosacea, supporting the use of follicular scales as a diagnostic indicator of this condition. Importantly, follicular scales can be very discreet and may need close examination to be detected (Fig. 4): they can resemble extruded comedones, trichostasis, follicular hyperkeratosis and ulerythema ophryogenes so 2 consecutive SSSBs should be performed at the same site to confirm the clinical diagnosis (30).

As expected, vascular symptoms were more frequent in the PPR-suggestive group than in patients with demodicosis, because, by definition, all patients with typical PPR

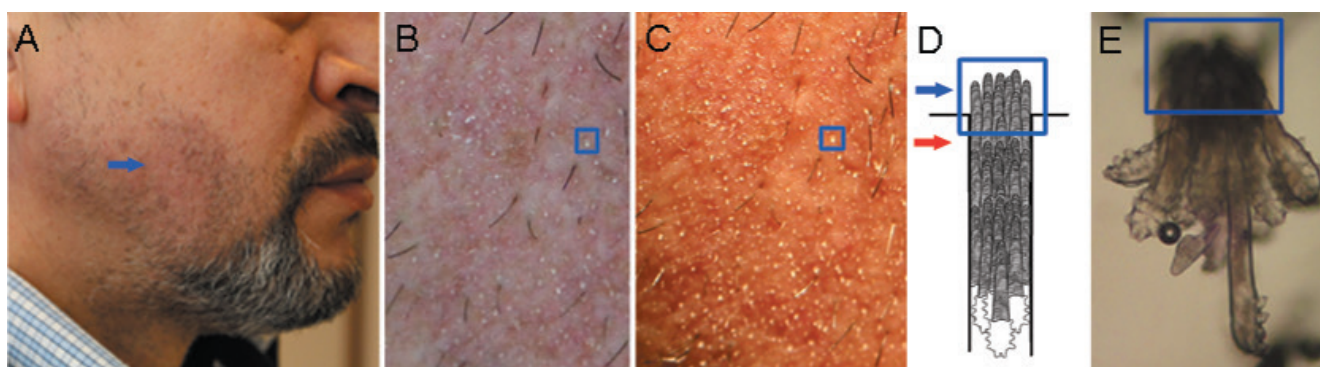


Fig. 4. Follicular scales: detection and significance. (A) Pityriasis folliculorum on the right cheek of a 55-year-old man consulting recently (not included in the study) for symmetrical hyperpigmentation of the beard present for 2 years (blue arrow). (B) Close examination revealed thin whitish follicular scales at the base of the hair, giving a frosted appearance and a rough texture. Each follicular scale corresponds to the most superficial part of numerous opisthosomas agglutinated in the follicle (blue box on B, C, D, E). (C) The scales are more visible when the skin was cleaned with ether and using tangential illumination. (D) Schematic representation of numerous Demodex mites, agglutinated at different levels (arrows) inside the follicle. (E) Microscopic view ($\times 100$) of 10 D. folliculorum agglutinated in a single follicle in a standardized skin surface biopsy (SSSB). In this patient, the 2 successive SSSBs revealed 160 and 340 D/cm² respectively. The final diagnosis was demodicosis: pityriasis folliculorum with secondary post-inflammatory pigmentation on phototype V. Patient permission was obtained.

have persistent erythema. However, most of the patients with pityriasis folliculorum (83%), the most frequent demodicosis, also had vascular symptoms: these patients are usually diagnosed as having simple erythematotelangiectatic rosacea (ETR) or flushes because these vascular symptoms are easily visible, whereas follicular scales are more discreet. Interestingly, however, 17% of patients with pityriasis folliculorum had no vascular symptoms and 10% had only flushing (Table SIII¹), thus a diagnosis of pityriasis folliculorum should also be considered when no vascular symptoms are present.

The high prevalence of scalp involvement was an unexpected finding of this study. Because scalp involvement has rarely been reported in demodicosis (37–42), and even more rarely in rosacea (43–46), its presence was not specifically looked for when the study started, which explains why most of the patients with scalp involvement were identified in the later phase of the study.

Because scalp SSSB is painful, diagnosis of scalp involvement was not confirmed by parasitological examination (except in 2 patients). To confirm that these scalp symptoms correspond to true scalp involvement by Demodex mites, future studies are needed that systematically assess the Dd on the scalp, using techniques other than SSSB, such as confocal laser microscopy. Dermoscopy has a much lower resolution than confocal laser microscopy and, to our knowledge, cannot differentiate Demodex mites from other conditions (e.g. follicular hyperkeratosis, extruded comedones, trichostasis) nor measure their density. The presence of seborrhoeic dermatitis may also be associated with dandruff or pruritus of the scalp. Indeed, the presence of scalp symptoms was statistically related to the presence of facial seborrhoeic dermatitis. Nevertheless, in our experience, scalp symptoms are generally the first clinical symptoms to disappear with acaricidal treatment, indirectly confirming abnormal proliferation of Demodex on the scalp. Application of an acaricidal treatment, not only to the face, but also systematically to the scalp, may therefore be useful in patients with demodicosis and those with rosacea to normalize the Dds on the whole head. This approach may influence treatment efficacy and reduce potential relapses, but this hypothesis needs to be confirmed by prospective studies.

Pruritus, traditionally associated more with demodicosis (14, 15, 28, 29), was observed with the same frequency in demodicosis and rosacea. As pruritus was most frequently localized to the scalp, the occurrence of pruritus in subgroup A (24%) probably better reflects the real prevalence compared with that reported in the entire group of 844 patients. Nevertheless, this percentage is less than that reported by Akilov and colleagues, who observed pruritus in all their patients with demodicosis (28). The reasons for this difference are unclear.

The proportion of patients with ocular involvement (21%), although comparable to that reported in other

studies (28, 47), was less than that reported in patients with rosacea recruited from an ophthalmological consultation (48, 49). In patients with clinical evidence of ocular involvement, Demodex mites were generally found on the eyelashes (91%), with a mean of 1.6 ± 0.1 Demodex mites/lash, confirming data from Gao et al. (18).

The mean Dds in the skin were greater when the eyes were involved and when the scalp was involved, although the latter finding was not statistically significant; moreover, eye and scalp involvement were often observed together. These observations suggest that ocular and scalp involvement probably represent a more advanced stage of the disease, as has already been reported (47, 50). Bae et al. (50) observed a significant association between the severity of ETR and ocular rosacea. Tan et al. (47) observed that ocular signs developed after the establishment of cutaneous signs, and that PPR tended to occur after ETR; moreover, they observed ocular involvement in 42% of patients with the PPR subtype and 33% of those with the ETR subtype.

Although ocular involvement and vascular symptoms were more frequent in PPR-suggestive patients than in those with demodicosis, and in PPR with than without persistent erythema, other signs (follicular scales, scalp involvement and pruritus) were encountered with a similar prevalence in these different groups. As these subgroups also have similar Dds (11, 30), our observations are compatible with the hypothesis that these diagnostic groups (PPR-suggestive, demodicosis, PPR with and without persistent erythema) may all be phenotypes of the same disease (10, 11).

In conclusion, this study highlights the high frequency of discreet follicular scales in patients with rosacea and demodicosis, stressing their value in diagnosis and the utility of close clinical examination to detect them, especially when the clinical diagnosis is difficult. Our results also suggest that these diagnoses should be considered in patients with pruritus or symptoms localized to the scalp (dandruff, pruritus, folliculitis), which are frequently associated with ocular involvement and are likely to correspond to an advanced stage of disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was approved by our local IRB (Erasmus Hospital, P 2014/117).

Conflicts of interest: FMNF occasionally works as a consultant for Galderma, VDM has no conflicts of interest to declare.

REFERENCES

1. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R, et al. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 584–587.
2. Tan J, Almeida LM, Bewley A, Cribier B, Dlova NC, Gallo R, et al. Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: Recommendations from the global ROSacea CON-

- sensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; 176: 431–438.
3. Forton F, Germaux MA, Brasseur T, De Liever A, Laporte M, Mathys C, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 74–87.
 4. Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Dermatology Syphilology* 1930; 21: 19–24.
 5. Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; 83: 816–827.
 6. Dominey A, Tschen J, Rosen T, Batres E, Stern JK. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 81–84.
 7. Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; 170: 1219–1225.
 8. Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; 133: 294–299.
 9. Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26: 19–28.
 10. Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC, Stene JJ, Brasseur TV, Mathys CL, et al. Demodicosis: descriptive classification and status of rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; 29: 829–832.
 11. Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; 32:1011–1016.
 12. Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with Demodex folliculorum. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 1159–1162.
 13. Schaller M, Sander CA, Plewig G. Demodex abscesses: clinical and therapeutic challenges. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: S272–274.
 14. Ashack RJ, Frost ML, Norins AL. Papular pruritic eruption of Demodex folliculitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 306–307.
 15. de Jaureguiberry JP, Carsuzaa F, Pierre C, Arnoux D, Jaubert D. Folliculite à Demodex: une cause de prurit au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *Ann Med Interne (Paris)* 1993; 144: 63–64.
 16. Morgan RJ, Coston TO. Demodex blepharitis. *South Med J* 1964; 57: 694–699.
 17. Seifert HW. Demodex folliculorum als Ursache eines solitären tuberkuloiden Granuloms. *Z Hautkr* 1977; 53: 540–542.
 18. Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, Liu DT, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, et al. High prevalence of Demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3089–3094.
 19. Kim JH, Chun YS, Kim JC. Clinical and immunological responses in ocular demodicosis. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1231–1237.
 20. Post CF, Juhlin E. Demodex folliculorum and blepharitis. *Arch Dermatol* 1963; 88: 298–302.
 21. Liu J, Sheha H, Tseng SC. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 505–510.
 22. Rodríguez AE, Ferrer C, Alió JL. Chronic blepharitis and Demodex. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2005; 80: 635–642.
 23. Kim JT, Lee SH, Chun YS, Kim JC. Tear cytokines and chemokines in patients with Demodex blepharitis. *Cytokine* 2011; 53: 94–99.
 24. Liang L, Ding X, Tseng SC. High prevalence of Demodex brevis infestation in chalazia. *Am J Ophthalmol* 2014; 157: 342–348.
 25. Yam JC, Tang BS, Chan TM, Cheng AC. Ocular demodicidosis as a risk factor of adult recurrent chalazion. *Eur J Ophthalmol* 2014; 24: 159–163.
 26. Zhao YaE, Wu LP, Hu L, Xu JR. Association of blepharitis with Demodex: a meta-analysis. *Ophthalmic Epidemiol* 2012; 19: 95–102.
 27. Inceboz T, Yaman A, Over L, Ozturk AT, Akisu C. Diagnosis and treatment of demodectic blepharitis. *Turkiye Parazitolo Derg* 2009; 33: 32–36.
 28. Akilov OE, Butov YS, Mumcuoglu KY. A clinico-pathological approach to the classification of human demodicosis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005; 3: 607–614.
 29. Sędzikowska A, Oseka M, Grytner-Zięcina B. Ocular symptoms reported by patients infested with Demodex mites. *Acta Parasitologica* 2016; 61: 808–814.
 30. Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; 97: 242–248.
 31. Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; 128: 650–659.
 32. Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 443–448.
 33. Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15: 441–444.
 34. Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, Ruzicka T, Berking C. Non-invasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012; 62: 1050–1052.
 35. Casas C, Paul C, Lahfa M, Livideanu B, Lejeune O, Alvarez-Georges S, et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; 21: 906–910.
 36. Zhao Ya, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; 146: 896–902.
 37. Miskjian HG. Demodicidosis (Demodex infestation of the scalp). *Arch Derm Syph* 1951; 63: 282–283.
 38. Pietrini P, Favennec L, Brasseur P. Demodex folliculorum in parakeratosis of the scalp in a child. *Parasite* 1995; 2: 94.
 39. Hellerich U, Metzelder M. Incidence of scalp involvement by Demodex folliculorum Simon ectoparasites in a pathologic-anatomic and forensic medicine autopsy sample. *Arch Kriminol* 1994; 194: 111–118.
 40. Sanfilippo AM, English JC. Resistant scalp folliculitis secondary to Demodex infestation. *Cutis* 2005; 76: 321–324.
 41. Fernandez-Flores A, Alija A. Scalp folliculitis with demodex: innocent observer or pathogen? *Braz J Infect Dis* 2009; 13: 81–82.
 42. Helou W, Avitan-Hersh E, Bergman R. Demodex folliculitis of the scalp: clinicopathological study of an uncommon entity. *Am J Dermatopathol* 2016; 38: 658–663.
 43. Gajewska M. Rosacea of common male baldness. *Br J Dermatol* 1975; 93: 63–66.
 44. Miguel-Gomez L, Fonda-Pascual P, Vano-Galvan S, Carrillo-Gijon R, Muñoz-Zato E. Extrafacial rosacea with predominant scalp involvement. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2015; 81: 511–513.
 45. Fortuna MC, Garelli V, Pranteda G, Romaniello F, Cardone M, Carlesimo M, et al. A case of scalp rosacea treated with low dose doxycycline and probiotic therapy and literature review on therapeutic options. *Dermatol Ther* 2016; 29: 249–251.
 46. Oberholzer PA, Nobbe S, Kolm I, Kerl K, Kamarachev J, Trüeb RM. Red scalp disease – a rosacea-like dermatosis of the scalp? Successful therapy with oral tetracycline. *Dermatology* 2009; 219: 179–181.
 47. Tan J, Blume-Peytavi U, Ortonne JP, Wilhelm K, Marticou L, Baltas E, et al. An observational cross-sectional survey of rosacea: clinical associations and progression between subtypes. *Br J Dermatol* 2013; 169: 555–562.
 48. Ghanem VC, Mehra N, Wong S, Mannis MJ. The prevalence of ocular signs in acne rosacea: comparing patients from ophthalmology and dermatology clinics. *Cornea* 2003; 22: 230–233.
 49. Quarterman MJ. Ocular rosacea. Signs, symptoms, and tear studies before and after treatment with doxycycline. *Arch Dermatol* 1997; 133: 49–54.
 50. Bae YI, Yun SJ, Lee JB, Kim SJ, Won YH, Lee SC. Clinical evaluation of 168 Korean patients with rosacea: the sun exposure correlates with the erythematotelangiectatic subtype. *Ann Dermatol* 2009; 21: 243–249.
 51. English FP, Nutting WB. Demodicosis of ophthalmic concern. *Am J Ophthalmol* 1981; 91: 362–372.

Table SI. Clinical diagnoses of the 844 patients included in the study.

Clinical groups	patients	
	n	%
PPR suggestive		
with persistent erythema	215	25.5
without persistent erythema	27	3.2
granulomatous rosacea	7	0.8
steroid-induced rosacea	5	0.6
PPR-suggestive ALL	254	30.1
Demodicosis		
Pityriasis folliculorum	445	52.7
Follicular eczematids	80	9.5
Folliculitis	44	5.2
Pigmentation	14	1.7
Isolated inflammatory papule	6	0.7
Isolated ocular demodicosis	1	0.1
Demodicosis ALL	590	69.9
TOTAL	844	100.0

Table SII. Clinical signs and symptoms in the full cohort of 844 patients with PPR-suggestive or demodicosis, and in the two subgroups: A (488 patients included from August 2005) and B (490 patients who had had no recent treatment and did not have an associated facial dermatosis).

Clinical signs and symptoms	Full cohort		Subgroup A		Subgroup B	
	n= 844		n=488		n=490	
	n	%	n	%	n	%
Vascular symptoms ^a	677	80	366	75	399	81
flushes	531	63	287	59	316	64
persistent erythema	601	71	325	67	353	72
Follicular scales (skin)	782	93	457	94	460	94
Papules	330	39	177	36	174	36
Pustules	188	22	101	21	91	19
Follicular eczematids	108	13	41	8	75	15
Pigmentation	15	2	8	2	12	2
Cylindrical dandruff (lash)	72	9	65	13	76	16
Blepharitis	78	9	56	12	56	11
Conjunctivitis	12	1	7	1	9	2
Chalazion	18	2	12	3	9	2
Pruritus	130	15	117	24	68	14
Scalp complaint	321	38	244	50	164	33
Ocular involvement	180	21	140	29	103	21

^a: flushes or persistent erythema

Table SIII. Presence of follicular scales and vascular symptoms according to clinical diagnosis in subgroup B: 490 patients with no recent treatment or other associated facial dermatosis.

Clinical diagnosis	Follicular scales			Vascular symptoms ^a			
	n	n	%	P-value	n	%	P-value
PPR-suggestive:							
with persistent erythema	120	113	94	1.000	120	100	<0.001
without persistent erythema	12	11	92				
granulomatous rosacea	1	1	100				
steroid-induced rosacea	0	-	-				
PPR-suggestive ALL^c	133	125	94		125	94	
Demodicosis:							
pityriasis folliculorum	261	258	99	<0.001	216 ^b	83	0.001
follicular eczematids	56	41	73				
folliculitis	26	25	96				
pigmentation	11	9	82				
isolated inflammatory papule	3	2	67				
Demodicosis ALL^c	357	335	94		274	77	
TOTAL	490	460	94		399	81	

^a: flushes or persistent erythema

^b: including 26 (10%) with only flushes

^c: vascular symptoms were more frequent in the PPR-suggestive group than in demodicosis group ($p < 0.001$), whereas the frequency of follicular scales was not different between these two groups ($p = 1.000$).

Table SIV. Mean Demodex densities in the facial skin according to the presence or absence of ocular involvement and scalp complaints in subgroup A: patients included from August 2005.

Patients	n	%	SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
			Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p
with ocular involvement	140	29	116 ± 10	<0.001	268 ± 20	<0.001	383 ± 27	<0.001
without ocular involvement	348	71	86 ± 6		165 ± 10		251 ± 14	
with scalp complaints	244	50	101 ± 8	0.343	204 ± 13	0.292	305 ± 18	0.248
without scalp complaints	244	50	88 ± 7		185 ± 13		273 ± 18	
TOTAL	488	100	95 ± 5		194 ± 9		289 ± 13	

SSSB: standardised skin surface biopsy.

Table SV. Mean Demodex densities in the facial skin according to the presence or absence of ocular involvement in the whole cohort.

	Patients		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
	n	%	Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p
with ocular involvement	180	21	108 ± 9	0.002	263 ± 17	<0.001	371 ± 23	<0.001
without ocular involvement	664	79	77 ± 4		157 ± 7		234 ± 9	
All patients	844	100	84 ± 4		180 ± 7		264 ± 9	

SSSB: standardised skin surface biopsy.

Table SVI. Mean number of Demodex/eyelash in the different subgroups of clinical ocular involvement (whole cohort).

Ocular involvement	Patients		Patients with analysed lashes	Number of D observed in the lashes / patient	Number of epilated lashes / patient	Number of D/lash	
	n	%				Mean ± SEM	p
Cylindrical scales	72	40.0	66	8.6 ± 0.8	5.2 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.063
Blepharitis	78	43.3	71	7.3 ± 0.6	5.3 ± 0.3	1.5 ± 0.1	
Conjunctivitis	12	6.7	9	6.8 ± 1.8	6.2 ± 1.0	1.2 ± 0.3	
Chalazion	18	10.0	15	4.0 ± 1.3	4.6 ± 0.5	1.0 ± 0.4	
ALL	180	100	161	7.5 ± 0.5	5.2 ± 0.2	1.6 ± 0.1	

D: Demodex

Table SVII. Mean Demodex densities in the skin, in the different subgroups of clinical ocular involvement (whole cohort).

Ocular involvement	Patients		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1+2	
	n	%	Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p	Mean ± SEM	p
Cylindrical scales	72	40	124 ± 15	0.123	297 ± 26	0.061	421 ± 37	0.056
Blepharitis	78	43	95 ± 11		260 ± 28		356 ± 35	
Conjunctivitis	12	7	51 ± 24		126 ± 35		177 ± 56	
Chalazion	18	10	138 ± 39		229 ± 45		367 ± 68	
ALL	180	100	108 ± 9		263 ± 17		371 ± 23	

SSSB: standardised skin surface biopsy

Fig. S1. Epilated lash of a patient with cylindrical dandruff, showing *Demodex folliculorum* protruding at the base of the hair: (A) usual presentation of some adult mites (X100); (B): at least 4 eggs of *D. folliculorum* (X100); (C): inner root sheath epilated with the hair shaft, showing one *D. folliculorum* at the opening of the pilosebaceous orifice (X40), (D): closer view of this mite showing the opisthosoma protruding externally, the bag close to the hair shaft, and the mouthparts orientated externally to the epithelial cells of the infundibulum, as described by English and Nutting (51)(X100).

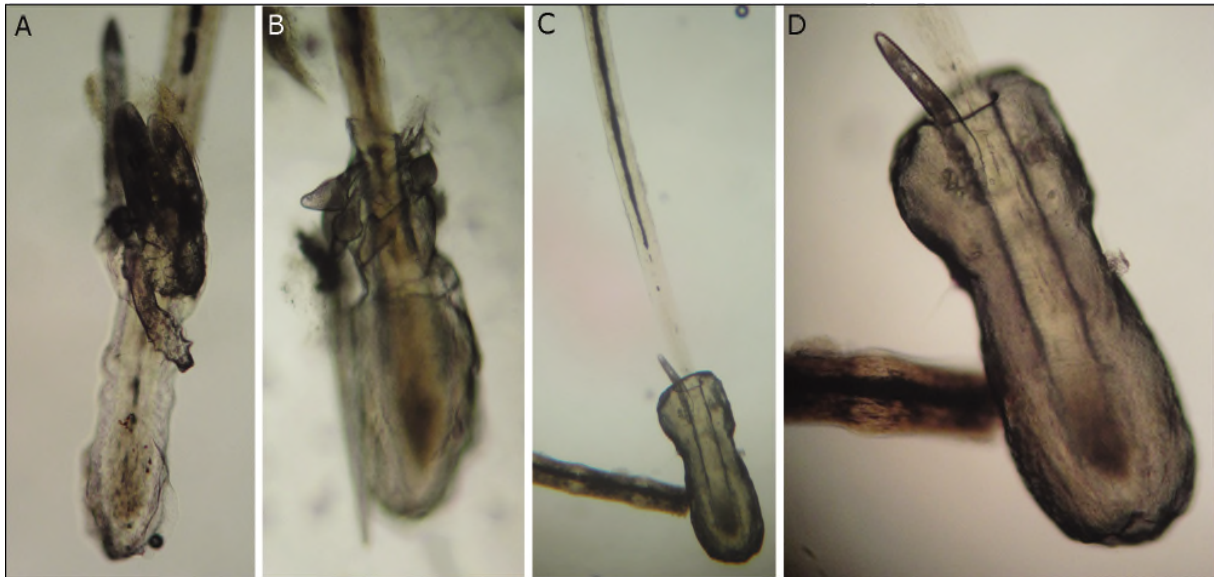


Fig. S2. A 43-year old woman with demodectic excoriated prurigo of the face. (a): right cheek, with SSSB1+SSSB2 values indicated on the figure, sampled at the angle of the jaw on the right side, indicated on the figure. (b) At closer examination, excoriated papules and dilated pilosebaceous orifices; (c) Non-excoriated papule (white arrow) with discreet pityriasis folliculorum (blue arrows).

Patient permission obtained.



Les **écaillés folliculaires** sont donc, en toute logique, le signe clinique le plus souvent retrouvé dans notre groupe de patients Demodex+. Celles-ci peuvent être localisées sur le visage, mais aussi sur les paupières, les oreilles, le cou et le cuir chevelu. Sur le bord libre des paupières, elles correspondent aux « **cylindrical dandruff** »¹⁶³ décrites à la base des cils (§ 1.3.1.3.) et, sur le cuir chevelu, elles correspondent aux **pellicules**.

A partir du moment où ils ont été recherchés, les symptômes au niveau du cuir chevelu et le prurit ont été constatés respectivement chez 50% et 24% des patients, et ce, y compris parmi les patients de rosacée. Bien qu'en partie associés à des dermatites séborrhéiques, les symptômes au niveau du cuir chevelu pourraient néanmoins témoigner d'une véritable atteinte démodécique du cuir chevelu, comme le suggère l'observation des 2 patients chez qui nous avons cherché et trouvé les parasites en grand nombre dans le cuir chevelu. Nous avons en outre pu observer que les atteintes oculaires et du cuir chevelu étaient fréquemment associées entre elles, et pourraient témoigner d'un stade plus avancé d'infestation au vu des Dds plus élevées en cas d'atteinte oculaire.

Certains symptômes se retrouvent plus parmi les PPR-suggestive que parmi les démodécies : l'atteinte oculaire et les symptômes vasculaires (ce qui est normal vu que l'érythème permanent est un symptôme diagnostique de la RPP et que le groupe des PPR-suggestives contient une majorité de RPP typiques).

Les symptômes vasculaires sont particulièrement fréquents parmi les patients atteints de pityriasis folliculorum (aux alentours de 80% : Tableau 16), ce qui explique en partie la confusion de diagnostic (§ 1.5., 5.2.1.1. A.4.b et 5.5.1.).

Vascular symptoms	All (n= 445)		Subgroup of patients with no recent treatment or associated dermatosis (n= 261)	
	n	%	n	%
Flushes only	44	9,9	26	10,0
Persistent erythema only	85	19,1	52	19,9
Flushes AND persistent erythema	224	50,3	138	52,9
Flushes OR persistent erythema	353	79,3	216	82,8
No flushes or persistent erythema	92	20,7	45	17,2

Tableau 16.
Symptômes vasculaires parmi les patients avec pityriasis folliculorum.

Les écaillés folliculaires, le prurit, et les symptômes du cuir chevelu sont retrouvés avec une fréquence similaire à la fois parmi les patients atteints de démodécie et ceux atteints de PPR-suggestive, et également parmi les patients atteints de RPP avec et sans érythème persistant (Tableau 1 de l'article), venant soutenir la thèse selon laquelle ces entités n'en seraient qu'une. Afin d'approfondir ce point, nous avons essayé de comparer les deux « entités », RPP et démodécie pseudo-rosacée, en fonction des caractéristiques cliniques attribuées à chacune, dans l'étude suivante (§ 4.2.5.).

4.2.5. RPP et démodécie pseudo-rosacée¹⁶¹

Le diagnostic de RPP n'est pas toujours facile, en partie parce qu'elle peut être confondue avec d'autres dermatoses courantes,^{126,225,321,371,372} mais aussi à cause de la grande ambiguïté et des controverses concernant le sous-type II (RPP) : quel diagnostic donner aux patients présentant des papulopustules centrofaciales sans érythème ?

Comme nous l'avons détaillé au § 1.4.3., selon la première définition de la NRS, ces patients auraient une rosacée mais pas le sous-type II (RPP).³²¹ D'après le consensus ROSCO, ces patients n'ont pas une rosacée.^{340,341} Pour Chen et Plewig, ils auraient une démodécie pseudo-rosacée (qu'ils nomment "démodécie primaire papulopustuleuse").¹⁰⁷ Par ailleurs, le consensus ROSCO spécifie en toutes lettres que le diagnostic de démodécie doit être exclu avant de pouvoir poser le diagnostic de rosacée,³⁴⁰ mais ne précise pas comment l'exclure ...

Bref, la distinction entre RPP et démodécie pseudo-rosacée n'est ni claire en théorie, ni facile en pratique. Mais ce qui est clair par contre, c'est que **la plupart des experts considèrent deux entités distinctes : la démodécie pseudo-rosacée, causée par le Demodex, et la RPP, non causée par le Demodex** (§ 1.4.8.5., Fig. 64). En effet, si, dans la démodécie, le rôle central de Demodex est accepté par définition,¹¹⁰ il reste encore très controversé dans la RPP (§ 1.4.8.4.).

Si la RPP et la démodécie pseudo-rosacée sont deux maladies distinctes, l'hypothèse la plus logique serait que la Dd soit normale dans la RPP et élevée dans la démodécie pseudo-rosacée. Cependant, nous savons déjà que les patients atteints de RPP ont une Dd plus élevée que les patients avec une peau saine^{51,205,212,213,223,224,342,343,345,346} et que les patients atteints de RPP ayant une Dd normale sont rares.^{51,126,212} Mais aucune étude ne compare la Dd des patients avec RPP avec celle des patients atteints de démodécie pseudo-rosacée.

Nous avons donc exploré les Dds chez les patients atteints de papulopustules centrofaciales, en fonction de leurs symptômes, en essayant de comparer les RPPs typiques et les démodécies pseudo-rosacée. Pour ce faire, nous n'avons analysé que les deux sous-groupes les plus fréquents de PPR-suggestive, avec et sans érythème persistant, soit **242 patients**, sans tenir compte des rosacées stéroïdiennes ni granulomateuses. Afin d'éviter les facteurs confondants, nous avons également analysé un **sous-groupe de 132 patients** sans traitement récent ni autre dermatose faciale associée.

L'article est en libre accès sur internet :

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jdv.14885>

ORIGINAL ARTICLE

Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease?

F.M.N. Forton,^{1,*} V. De Maertelaer²

¹Dermatology Clinic, Brussels, Belgium

²Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie humaine et moléculaire (IRIBHM) & Service de Biostatistique et Informatique médicale (SBIM), Université libre de Bruxelles (ULB), Brussels, Belgium

*Correspondence: F. Forton. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Abstract

Background Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis have numerous similarities, but they are generally considered as two distinct entities, mainly because the causal role of the Demodex mite in the development of rosacea is not yet widely accepted. Several clinical characteristics are traditionally considered to differentiate the two conditions; for example, papulopustular rosacea is typically characterized by central facial papulopustules and persistent erythema, whereas small superficial papulopustules and follicular scales rather suggest rosacea-like demodicosis. However, none of these characteristics is exclusive to either entity.

Objective To explore differences in Demodex densities according to clinical characteristics traditionally associated with these two conditions.

Methods Retrospective, observational, case-control study of 242 patients with central face papulopustules. Demodex densities were measured on two consecutive standardized skin surface biopsies.

Results In the whole cohort, Demodex densities were greater in patients with persistent erythema than in those without. In 132 patients without recent treatment or other facial dermatoses, 120 (91%) had persistent erythema, 119 (90%) small superficial papulopustules and 124 (94%) follicular scales; 116 (88%) simultaneously had clinical characteristics traditionally associated with both papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis. Higher Demodex densities were linked to the presence of follicular scales, but not to papulopustules size, nor to the presence/absence of persistent erythema.

Conclusion Our observations highlight the difficulty differentiating between these entities and suggest that rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea should no longer be considered as two separate entities, but rather as two phenotypes of the same disease.

Received: 3 December 2017; Accepted: 26 January 2018

Conflicts of Interest

Dr Forton occasionally works as a consultant for Galderma; Prof De Maertelaer has no conflict of interest to declare.

Funding sources

None.

Introduction

Rosacea and demodicosis are common dermatoses, but their nosologic classification and diagnostic criteria are still controversial.^{1–3} The National Rosacea Society (NRS) expert committee defines rosacea as a central face distribution of at least one of four primary features: flushing, persistent erythema, papules and pustules and telangiectasia.⁴ The global ROSacea COnsensus

(ROSCO) panel recently suggested a more phenotype-based approach with two features only—phymatous changes and persistent centropacial erythema—considered as diagnostic, and other features considered as major (flushing, inflammatory papules and pustules, telangiectasia, ocular manifestations) or secondary (burning, stinging and dry sensation of the skin, oedema).⁵

Four subtypes of rosacea—erythematotelangiectatic rosacea, papulopustular rosacea (PPR), phymatous rosacea and ocular rosacea—and one variant (granulomatous rosacea) were defined by the NRS consensus, each associated with specific groups of

The study was approved by our local institutional review board (Erasmus Hospital, P 2014/117)

symptoms.⁴ Using the NRS definitions, diagnosis of subtype II, PPR, requires the presence of two features: persistent erythema and papulopustules.⁴ Hence, patients with central face papulopustules have rosacea, but if this is not associated with persistent erythema, they do not have PPR according to the NRS consensus definitions. Chen and Plewig consider that these patients probably have rosacea-like demodicosis (which they called 'primary papulopustular demodicosis').⁶

Rosacea is usually considered to be a primary disorder of innate and adaptive immunity, which can be stimulated by diverse triggers.^{4,5} Some experts consider that these immune reactions are not primary, but are the consequence of an abnormal proliferation of *Demodex* mite, itself probably induced by a local immunosuppressive factor, hypervascularization or sebaceous hyperplasia.^{2,3,7-9} However, this viewpoint is not yet widely accepted, because it cannot be proved using classical methods as the Koch postulates do not apply to this parasite.^{7,9,10}

In 1960, Ayres described rosacea-like demodicosis as a facial eruption clinically resembling rosacea but caused by *Demodex* proliferation.¹¹ Diagnosis is confirmed by the presence of a high density of *Demodex* mites^{1-3,7,9,11-13} and by clinical cure with normalization of *Demodex* density (Dd) after acaricidal treatment.^{2,7,9,11-13}

Currently, most experts distinguish two separate entities: 'PPR, not caused by *Demodex*' and 'rosacea-like demodicosis, caused by *Demodex*'.^{1,4,5} Paradoxically, the central role of *Demodex* in demodicosis is generally well-accepted,¹ although there are no more data to support its role in demodicosis than there are to support its role in PPR. Traditionally, rosacea-like demodicosis differs from PPR in several clinical criteria, including its unilateral distribution, the presence of more superficial and smaller papules and pustules, follicular scales and pruritus; moreover, persistent erythema may not be present.^{1-3,7,9,11-13} However, none of these criteria is exclusive or absolute: for example, unilateral distribution can be encountered in PPR,⁵ and rosacea-like demodicosis can have a bilateral distribution. Moreover, in clinical practice, we often observe patients with mixed characteristics from the two 'conditions' and the distinction can thus be very difficult.^{2,7,13,14} In addition, histopathological analysis cannot distinguish between these conditions.¹⁵

If PPR and rosacea-like demodicosis are two separate entities, the most logical hypothesis is that Dds should be normal in PPR and high in rosacea-like demodicosis. However, we now know that this is not the case: patients with PPR have higher Dds than do patients with healthy skin^{9,16-24} and cases of PPR with normal Dds are rare.^{3,16,24} There are no reports comparing Dds in these two conditions.

In this article, we explore Dds in patients with central face papulopustules, according to clinical characteristics usually attributed to either PPR or rosacea-like demodicosis, and report a case history that strongly supports the hypothesis that these two 'entities' are phenotypes of the same disease.

Methods

Patients

This retrospective study was approved by Erasme Hospital Ethics committee. In an earlier study, all patients attending our dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010 with clinical rosacea with central facial papulopustules were included (n = 254).²⁴ This study is a secondary analysis of 242 patients included in that study: the 215 patients with central facial papulopustules and persistent erythema and the 27 with central facial papulopustules without persistent erythema.

Two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs) were performed in each patient. For each patient, the date of consultation, age, sex, clinical diagnosis, symptoms, other potential facial dermatoses, recent treatment for the facial condition, location of the SSSBs and Dd values were recorded.

To avoid confounding factors that could potentially influence the facial cutaneous symptoms, we also evaluated a subgroup of 132 patients who had received no treatment during the previous 3 months and had no concomitant facial dermatoses (such as acne vulgaris or seborrhoeic dermatitis).

Sampling method

The SSSB is a sampling method in which 1 cm² of the superficial part of the horny layer and of the follicular content of the skin is collected (Fig. 1b).¹⁶ Full details of the method, including an online video, are available in our earlier publication.²⁴ The technique is simple and uses tools that are readily available in most dermatology clinics.

In our study, the patient's skin and the microscope slides were first cleaned with ether, and two SSSBs were then performed consecutively at the same place, allowing measurement of two Dds (D/cm²) (superficial [SSSB1] and deep [SSSB2]). The sum of these two values (SSSB1+2) was also noted.

The SSSBs were performed at the site of the main skin lesions, preferably on the cheek if affected (because the highest Dds have been observed here).^{17,19}

Statistical analysis

Continuous variables are summarized by their mean \pm standard error of the mean (SEM) and qualitative variables by numbers and percentages. Differences in continuous variables between groups were compared using Student's *t*-tests. Differences in qualitative variables were compared between groups using Pearson's exact chi-squared tests. Statistical significance was considered when *P* was <0.05. All statistical tests were performed using IBM-SPSS (version 23.0 to 24.0) software (IBM Corp, Armonk, NY, USA).

Results

Among the 215 patients with persistent erythema, the mean age was 48 years (range: 46–50; SEM: 1); 158 (73.5%) were women.

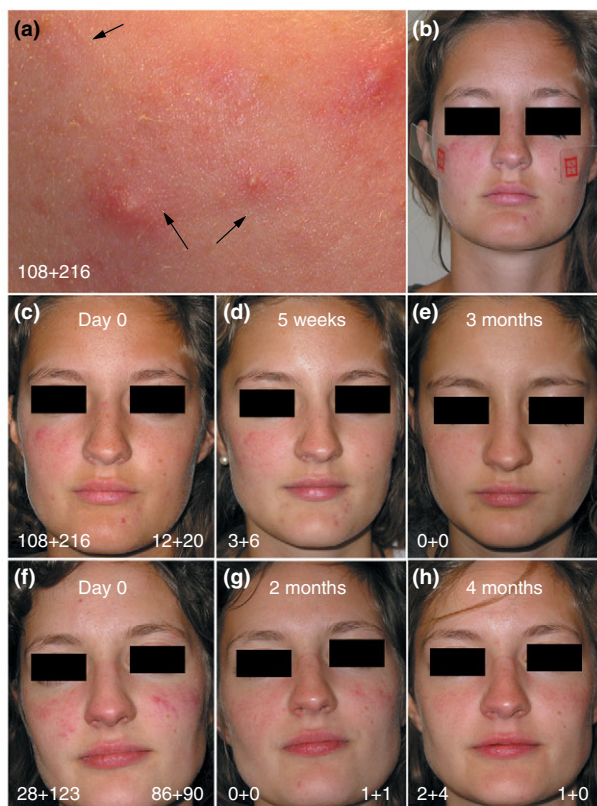


Figure 1 Rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea occurring successively in the same patient. Panels (a), (b) and (c): right cheek and full-face images of a 19-year-old woman consulting for a facial papulopustular eruption that had been present for 1 year. Panel a: careful examination showed no comedones, but discreet follicular scales at the hair roots (arrows), together with small superficial papulopustules unilaterally, enabling us to diagnose rosacea-like demodicosis. Panels (b) and (c): two standardized skin surface biopsies (SSSBs) were performed at the same site on each cheek during the consultation and Demodex densities (Dds) measured; results of the two biopsies are shown in the lower left and right corners for left and right cheek, respectively. Panels (d) and (e): full-face images after 5 weeks and 3 months of topical acaricidal treatment, showing progressive clearance of the eruption and normalization of Dds on the right cheek (SSSBs were not performed on the left cheek at these time points). Panel (f): full-face images of the same patient more than 3 years after the first presentation, 27 months after stopping the maintenance treatment. At this time, the papulopustules were larger than at the initial consultation and were spread across both her cheeks; she also suffered from flushing and persistent erythema. The clinical diagnosis was PPR. This time, the Dds were high on both cheeks. Panels (g) and (h): full-face images after 2 months and 4 months of the same topical acaricidal treatment as after the first episode, again showing progressive clearance of the eruption and normalization of Dds. Panels (a) and (c) reprinted from ref 2 (Forton FM, *et al.* Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:829-32). The patient has provided written consent for publication.

Among the 27 patients without persistent erythema, the mean age was 43 years (range: 36–50; SEM: 3); 17 (63%) were women. There were no statistically significant differences between these groups in age ($P = 0.084$) or sex ($P = 0.259$). The cheek was the most frequent biopsy site (215/242, 89%), with no statistically significant difference between the groups (196/215 and 19/27; $P = 0.099$).

Patients with persistent erythema had higher Dds than those without persistent erythema, the differences being statistically significant for SSSB2 and SSSB1+2 (respective values: SSSB1: 91 ± 8 D/cm² and 60 ± 17 D/cm² ($P = 0.081$); SSSB2: 208 ± 14 D/cm² and 130 ± 23 D/cm² ($P = 0.031$); SSSB1+2: 298 ± 19 D/cm² and 191 ± 36 D/cm² ($P = 0.025$)).

Among the subgroup of 132 patients who had not received any recent treatment and did not have another concomitant dermatosis, 120 (91%) had persistent erythema, 119 (90%) had small superficial papulopustules and 124 (94%) had follicular scales; 105 (80%) patients had all three of these signs. Eight patients had persistent erythema, follicular scales and large papulopustules, three patients had persistent erythema and small superficial papulopustules without follicular scales and 11 patients had follicular scales and small superficial papulopustules without persistent erythema. For three patients with persistent erythema and no follicular scales, the papulopustule size was unknown. One patient had persistent erythema with large papulopustules and no follicular scales, and one had large papulopustules, with no persistent erythema or follicular scales.

In this subgroup of 132 patients, those with persistent erythema had higher Dds than those without persistent erythema, but this difference was not statistically significant (Table 1); patients with follicular scales had higher SSSBs than those without follicular scales, the differences being statistically significant for SSSB2 and SSSB1+2 (Table 1). There was no statistically significant difference in mean Dd according to the size of the papulopustules.

Case report

A 19-year-old woman consulted in September 2010 for a facial papulopustular eruption that had been present for 1 year. Careful examination enabled us to diagnose rosacea-like demodicosis (Fig. 1a,c).

Two SSSBs were performed at the same site on each cheek (Fig. 1b): on the right cheek, where follicular scales and papulopustules were observed, the Dds were 108 and 216 D/cm²; on the left cheek, where the skin was clinically normal, the Dds were 12 and 20 D/cm².

The clinical diagnosis of rosacea-like demodicosis was thus confirmed and the patient was prescribed topical acaricidal treatment: she was told to wash her face twice a day with a soft soap, and then to apply a moisturizing cream in the morning and a cream composed of benzyl benzoate 20% and crotamiton

Table 1 Demodex densities in a subgroup of patients who had received no treatment during the previous 3 months and had no concomitant facial dermatosis (n = 132)

Clinical symptoms	Patients		SSSB 1		SSSB 2		SSSB 1 + 2	
	n	%	Mean ± SEM	<i>P</i>	Mean ± SEM	<i>P</i>	Mean ± SEM	<i>P</i>
Persistent erythema								
Present*	120	91	96 ± 12	0.361	215 ± 17	0.270	311 ± 26	0.253
Absent	12	9	81 ± 34		162 ± 36		243 ± 65	
Papulopustules†								
Small	119	90	101 ± 12	0.065	212 ± 17	0.764	312 ± 26	0.531
Large	10	8	49 ± 11		231 ± 81		279 ± 88	
Follicular scales								
Present	124	94	99 ± 12	0.092	220 ± 17	0.015	319 ± 26	0.018
Absent	8	6	23 ± 14		62 ± 18		85 ± 26	
All	132	100	95 ± 11		210 ± 16		305 ± 25	

Significant differences are highlighted by the bold printout of their *P*-value.

SSSB, standardized skin surface biopsy.

*PPR according to the consensus of the National Rosacea Society (NRS).

†for three patients (2%), the size of the papulopustules was unknown.

10% in cetomacrogol in the evening. She was also told to apply a lotion (benzyl benzoate 10% in isopropyl alcohol) to the scalp twice a week in the evening, and to use a sulphur shampoo the following morning.

After 5 weeks, the eruption had improved and the Dds were normal on the right cheek (Fig. 1d); by 3 months, she was clinically cured (Fig. 1e). The patient continued maintenance treatment, applying the acaricidal cream once a week and the sulphur shampoo once a month. 5 months later, her skin was still healthy and she decided to stop the treatment.

In July 2013, 27 months after stopping the maintenance treatment, the eruption reappeared. The patient attended our clinic 6 months later, in January 2014, more than 3 years after the initial consultation: at this time, the papulopustules were larger than at her initial consultation and involved both cheeks (Fig. 1f); she also suffered from flushing and persistent erythema. The clinical diagnosis was typical PPR. This time, the Dds were high on the two cheeks. She was prescribed the same treatment as for her initial presentation.

Two months later, the eruption had improved and the Dds were normal on both cheeks (Fig. 1g). The patient continued the treatment and by 4 months, the eruption had nearly completely cleared, with just postinflammatory macules persisting on her left cheek (Fig. 1h). She was told to continue the same maintenance therapy as after her first episode.

Discussion

The NRS expert committee and the global ROSCO panel define PPR as central face papulopustules with persistent erythema.^{4,5} According to this definition, most of our patients had PPR (89% in the group of 242 patients, 91% in the subgroup of 132 patients), whereas the other patients would be considered as 'not PPR'. According to Chen and Plewig, these latter patients could

be considered as having rosacea-like demodicosis.¹ In our patients, mean Dds were higher in those with persistent erythema than in those without. The same tendency was observed when patients with recent treatment or concomitant facial dermatoses were excluded, but this difference was no longer statistically significant, possibly because of the smaller number of patients compared in the statistical analysis. Our findings therefore demonstrate that a disease usually considered as not being caused by Demodex (PPR) has similar (and perhaps even slightly higher) Dds than a disease in which the role of the mite is accepted (rosacea with papulopustules without persistent erythema). It is difficult to understand how the presence of mites at similar density in these two clinically similar diseases can be considered to have a causative role in one condition, but to be only an epiphenomenon in the other. A more probable hypothesis is that the numerous mites are responsible for both conditions and that these two 'entities' should therefore be considered as two phenotypes of a single disease. This would explain the similar symptoms, similar histology, similar Dds and the similar response to the same acaricidal treatment.^{2,9,15,25,26} This hypothesis is also compatible with other arguments that support the active role of Demodex in rosacea.⁹

If in addition to consider only the presence of persistent erythema to differentiate PPR from rosacea-like demodicosis, we also take into account two other clinical characteristics usually considered as suggestive of rosacea-like demodicosis rather than PPR (i.e. follicular scales and small size of papulopustules), we observe that 88% (n = 116) of our patients had characteristics of both entities (105 with all three characteristics studied, eight with persistent erythema and follicular scales and three with persistent erythema and small superficial papulopustules). This finding further highlights the difficulty in distinguishing

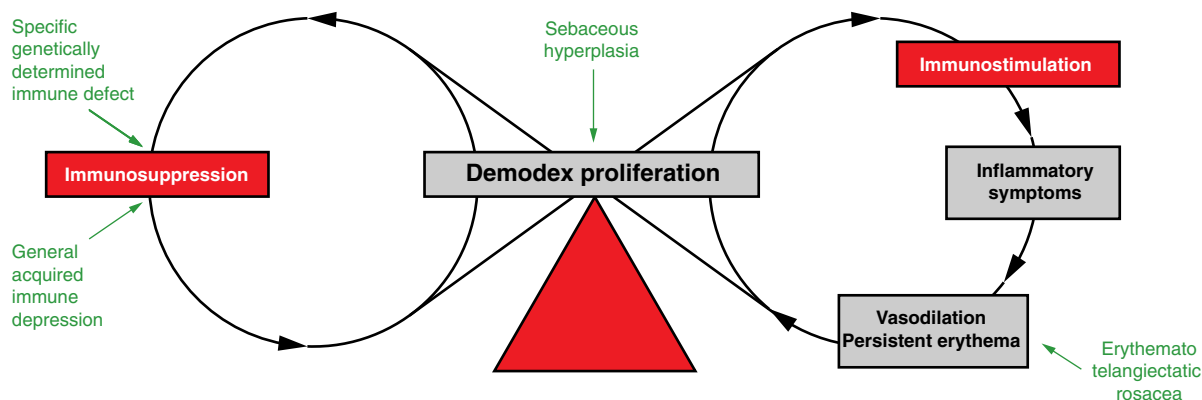


Figure 2 Pathophysiological hypothesis. Different underlying conditions (in green) may explain why there can be different phenotypes at the initial presentation. The two vicious circles of Demodex proliferation form a chain of eight explaining why phenotypes later often overlap and become largely indistinguishable. Finally, the balance (in red) between the two opposite actions of the parasite on immunity determines whether the predominant clinical manifestation of the disease is inflammatory or not.

clinically between these conditions in patients with central face papulopustules.^{2,7,13,14}

Patients with visible follicular scales had higher mean Dds than those without follicular scales; this is not surprising because follicular scales correspond to clusters of Demodex mites protruding externally. Based on this difference in Dds, one hypothesis could be that only patients with visible follicular scales (and higher Dds) could be considered as having rosacea-like demodicosis (94% of our patients with central face papulopustules), and the other patients considered as PPR (despite the presence of persistent erythema in 91% of the patients and Dds much higher than normal in the two groups). A more likely hypothesis is that Demodex mites are responsible for both conditions, and that the more numerous the mites, the more often follicular scales are visible.

Patients with large papulopustules tended to have a lower SSSB1 but higher SSSB2 than those with small papulopustules, although these differences were not statistically significant: this observation suggests that large papulopustules may be caused by more deeply situated *D. folliculorum* mites. Indeed, the depth of the inflammatory reaction may determine the size of the papulopustules: more superficial mites (*D. folliculorum* identified on the SSSB1) may induce more superficial inflammation, resulting in smaller and more superficial papulopustules; however, more deeply situated mites (deeply situated *D. folliculorum* identified on the SSSB2 or *D. brevis*) may induce inflammation at deeper levels, resulting in larger, deeper papulopustules. This hypothesis is compatible with the observation that among patients with chalazia, the prevalence of *D. brevis* was higher than that of *D. folliculorum*, and the prevalence and density of *D. brevis* were higher than in patients without chalazia.²⁷

All our observations therefore highlight the nosological confusion that persists between PPR and rosacea-like demodicosis and the need to update the consensus concerning the definition and classification of rosacea. Moreover, they suggest that PPR and rosacea-like demodicosis may be phenotypes of the same disease. This concept is supported by our case report, with many features indicating that the second presentation was an evolution of the first: for example, the same area was affected in both presentations, but the lesions were more dispersed in the second; the same symptoms were present but they were more intense in the second presentation; Dds were high on both occasions; and finally, both conditions responded to the same acaricidal treatment, with associated normalization of the Dds. Interestingly, our case report suggests that Demodex proliferation may initially be unilateral, but become bilateral with time.

Among patients with PPR, papulopustules usually appear after the vascular symptoms,^{28,29} suggesting that hypervascularized skin may favour Demodex proliferation. However, in the patient of our case report, vascular symptoms (flushes, persistent erythema) were only present on the second presentation, whereas the inflammatory symptoms (papulopustules) were present during the first episode, suggesting that proliferation of Demodex may also induce vasodilation, thus creating a vicious cycle in which hypervascularization favours Demodex proliferation, which induces an inflammatory reaction,^{9,22,30,31} leading to further vasodilation (Fig. 2). There may also be a second vicious circle: immunosuppression can favour proliferation of Demodex mites, but the mites probably secrete local immunosuppressant factors to facilitate their survival.^{2,32} At the beginning of the disease, the clinical presentation probably depends on which factors are present that favour Demodex proliferation^{2,9,33}: hypervascularization gives rise to 'PPR with persistent erythema'^{28,29};

whereas other factors (specific immune defect against the mite,³² general immunosuppression,³⁴ seborrhoeic hyperplasia^{2,9,35}) may initially present as 'PPR without persistent erythema'. Later in the course of the disease, these clinical patterns quickly overlap (Fig. 2).

In conclusion, while our observations do not prove a causative role of Demodex in rosacea, they nevertheless support the idea that PPR and rosacea-like demodicosis should no longer be considered as two separate entities, but rather as two phenotypes of the same disease. As such, the definition of rosacea subtype II (PPR) should be reconsidered and simplified to include all patients with central face papulopustules—with or without persistent erythema—and thus also patients with 'rosacea-like demodicosis', which is a term that should therefore disappear.

Acknowledgements

We thank Drs M Parmentier, V del Marmol and C Verhoeven, for their constructive remarks, and K Pickett for proofreading.

References

- Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 1219–1225.
- Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC *et al.* Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**: 829–832.
- Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- Wilkin J, Dahl M, Detmar M *et al.* Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; **46**: 584–587.
- Tan J, Almeida L, Bewley A *et al.* Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea COnsensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 431–438.
- Chen WC, Plewig G. Are demodex mites principal, conspirator, accomplice, witness or bystander in the cause of rosacea? *Am J Clin Dermatol* 2015; **16**: 67–72.
- Elston DM. Demodex mites as a cause of human disease. *Cutis* 2005; **76**: 294–296.
- Bevins ChL, Liu F-T. Rosacea: skin innate immunity gone awry? *Nat Med* 2007; **13**: 904–906.
- Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**: 19–28.
- Nutting WMB, Andrews JRH, Desch CE. Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. *J Biol Educ* 1979; **13**: 315–321.
- Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816–827.
- Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915–917.
- Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; **133**: 294–299.
- Hsu CK, Hsu MM, Lee JY. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**: 453–462.
- Cribier B. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. *J Eur Acad Derm Venereol* 2013; **27**: 1336–1343.
- Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997; **27**: 183–195.
- Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; **37**: 421–425.
- El Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Abdel Aaty HE. The pathogenesis of Demodex folliculorum (hair follicular mites in females with and without rosacea). *J Egypt Soc Parasitol* 2001; **31**: 867–875.
- Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, Ruzicka T, Berking C. Non-invasive *in vivo* detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012; **62**: 1050–1052.
- Casas C, Paul C, Lahfa M *et al.* Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; **21**: 906–910.
- Zhao Ya, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; **146**: 896–902.
- Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**: 242–248.
- Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol* 2015; **172**: 1103–1110.
- Schaller M, Gonsler L, Belge K *et al.* Dual anti-inflammatory and antiparasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**: 1907–1911.
- Liang L, Ding X, Tseng SC. High Prevalence of Demodex brevis Infestation in Chalazia. *Am J Ophthalmol* 2014; **157**: 342–348.
- Tan J, Blume-Peytavi U, Ortonne JP *et al.* An observational cross-sectional survey of rosacea: clinical associations and progression between subtypes. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 555–562.
- Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC, Patsouris E, Agapitos E. Rosacea: a clinicopathological approach. *Dermatology* 2004; **209**: 177–182.
- Forton F. Demodex et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**: 1047–1058.
- Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 441–444.
- Akilov OE, Mumcuoglu KY. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**: 440–444.
- Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. Demodex folliculorum in renal transplant patients. *Dermatology* 1997; **195**: 232–234.
- Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-responsive Demodex infestation during human immunodeficiency virus infection. *Dermatology* 2002; **205**: 394–397.
- Zhao Ya E, Guo N, Xun M, Xu JR, Wang M, Wang DL. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of Demodex infestation (Acari: Demodicidae). *J Zhejiang Univ-Sci B* 2011; **12**: 998–1007.

Notre étude montre que la Dd est similaire entre les RPPs typiques et les démodécies pseudo-rosacée et tend même à être supérieure en cas de présence d'érythème persistant. Elle montre aussi que 88% des patients présentent des caractéristiques cliniques des deux entités (RPP et démodécie pseudo-rosacée) et rapporte l'histoire remarquable d'une patiente ayant présenté les deux entités successivement : une démodécie pseudo-rosacée sans érythème persistant, puis une récurrence sous forme d'une RPP typique avec érythème persistant. **Ces observations illustrent ainsi la difficulté de dissocier ces entités et suggèrent qu'elles devraient plutôt être considérées comme des variantes phénotypiques de la même maladie.**

Par ailleurs, l'ordre d'apparition des symptômes observés dans notre cas clinique, ainsi que les données de la littérature^{225,226,228,229,231,338} et nos autres observations (§ 3.9., 3.11. et 4.2.6.) suggèrent qu'il existe un **cercle vicieux reliant la prolifération en Demodex et la RET**. D'une part, le Demodex induit une inflammation, qui comporte une composante vasculaire : le parasite peut donc induire une vasodilatation (Fig. 89). D'autre part, la fréquente présence de Demodex dans les RETs,^{226,230} en prévalence⁵⁵² et en densité intermédiaire entre les groupes Demodex- et Demodex+,^{229,343,565} et la survenue de RET préalablement à la RPP dans 66% des patients ayant présenté les deux,³³⁸ suggère que la RET peut, à son tour, favoriser la prolifération en Demodex (Fig. 90).^{225,226,228,229,231}

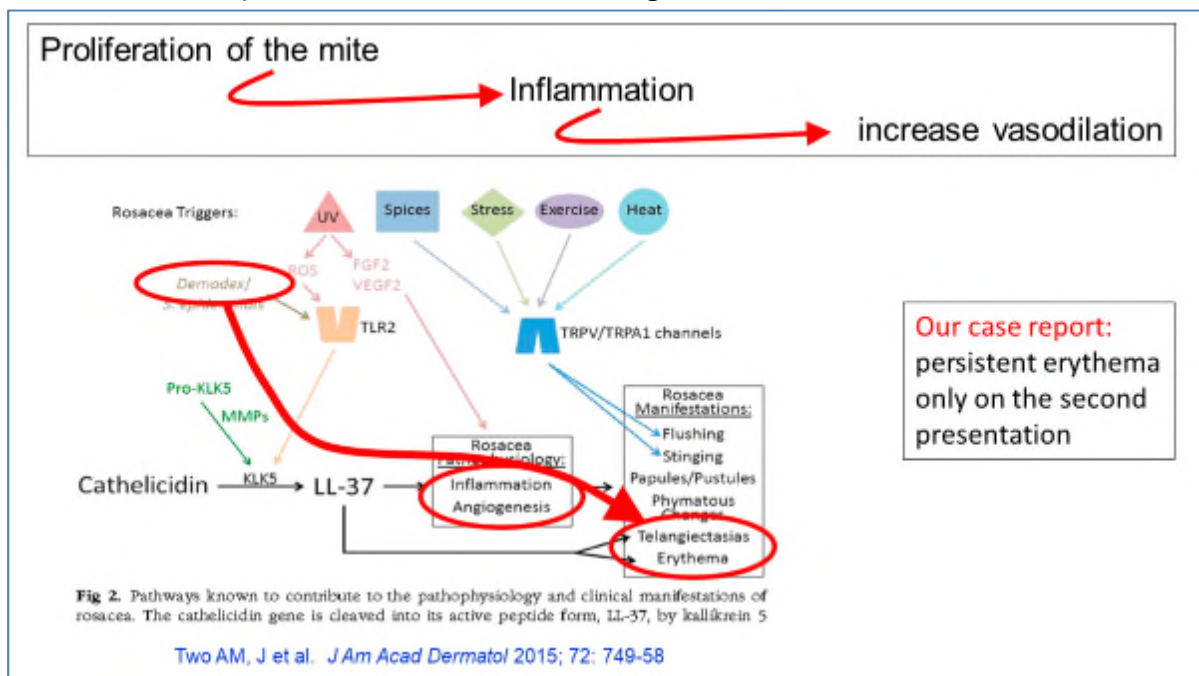


Fig. 89. Ce schéma physiopathogénique,²³¹ comme les autres (Annexe § 7.4.), suggère que le parasite induit la vasodilatation par l'intermédiaire de la réaction inflammatoire qu'il déclenche. Schéma reproduit et modifié depuis « Two AM, et al. Rosacea : part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *J Am Acad Dermatol* 2015; 72: 749-58». ²³¹

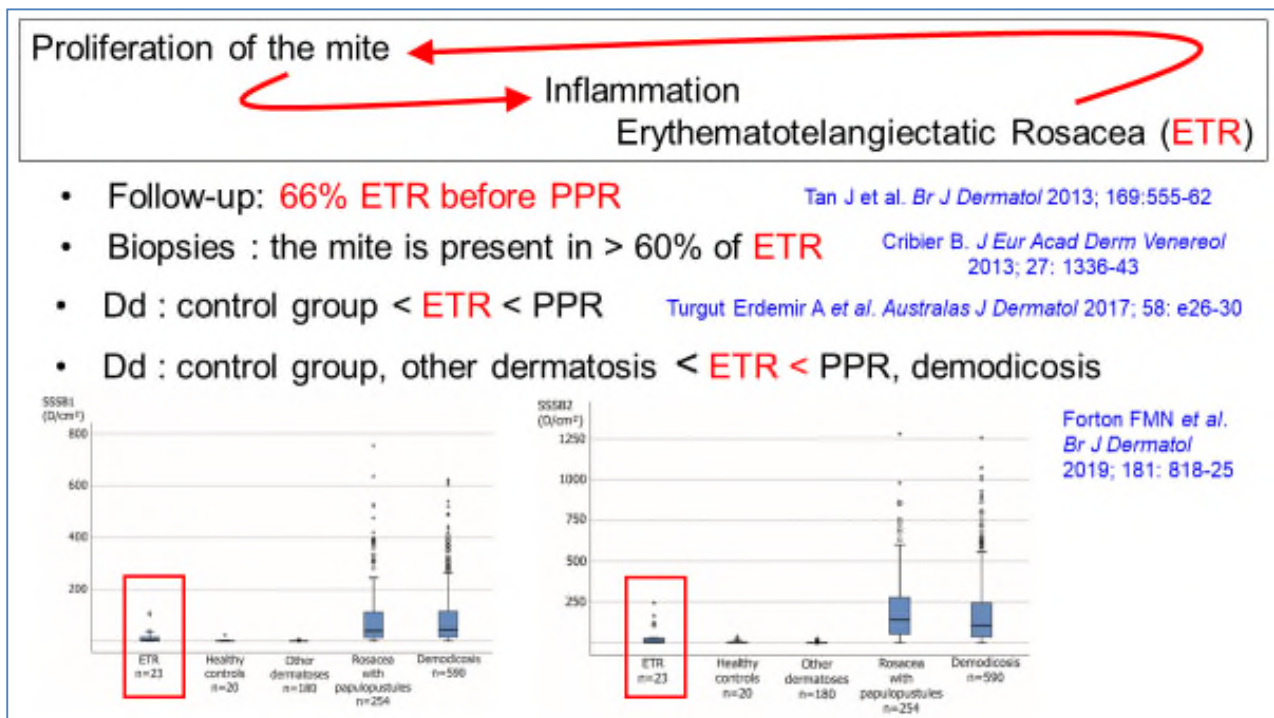


Fig. 90. Résumé graphique des arguments qui suggèrent que la RET favorise vraisemblablement la prolifération en Demodex.^{225,226,228,229,231}

Nous proposons donc un schéma physiopathologique de la rosacée où **les phénotypes dépendraient du facteur initial qui favorise la prolifération du parasite au départ**, mais où, par le truchement d'au moins deux cercles vicieux centrés sur le Demodex, formant un circuit en forme de « 8 », ils viendraient rapidement à se confondre, d'où l'observation que la majorité des patients présentent un mélange des caractéristiques des deux « entités » (Fig. 2 de l'article). **Ce schéma, établit en outre un lien physiopathogénique entre la RET et la RPP.**

Le fait d'observer des Dds intermédiaires dans le groupe des patients avec RET nous a conduit à leur consacrer un article séparé (§ 4.2.6.).

4.2.6. Démodécies subcliniques⁵⁶⁵

Le but caché de cet article est aussi d'essayer d'initier les dermatologues au diagnostic de pityriasis folliculorum, en leur montrant la photo clinique d'une RET (démodécie subclinique) et d'un pityriasis folliculorum côte à côte ; et aussi, à défaut de faire le diagnostic cliniquement, de les stimuler à chercher le Demodex devant tous les érythèmes permanents, afin qu'ils diagnostiquent les démodécies même s'ils ne voient pas les squames folliculaires visibles (§ 1.5.).

A la demande du British Journal of Dermatology, nous avons élaboré un power point utilisable directement par les lecteurs s'ils veulent parler de l'article dans leurs réunions dermatologiques, sur base de leur modèle proposé : nous l'avons reproduit sur deux pages placées après l'article.

4.2.7.1. ***L'article principal***

Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case–control study*

F. Forton ¹ and V. De Maertelaer ²

¹Dermatologist, rue Frans Binjé 8, 1030 Brussels, Belgium

²Free University of Brussels (ULB), Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie Humaine et Moléculaire (IRIBHM) and Service de Biostatistique et Informatique Médicale (SBIM), Route de Lennik 808/CP602, 1070 Brussels, Belgium

Linked Editorial: Thyssen. *Br J Dermatol* 2019; **181**:652–653.

Summary

Correspondence

Fabienne Forton.

E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Accepted for publication

19 February 2019

Funding sources

None.

Conflicts of interest

F.F. occasionally works as a consultant for Galderma and has occasionally received payment for this work.

*Plain language summary available online

DOI 10.1111/bjd.17817

Background Facial densities of *Demodex* mites have been observed to be greater in patients with demodicosis and papulopustular rosacea than in healthy control patients. In patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR), this density has been observed to be similar to or greater than that of healthy controls. Erythema and telangiectasia, characteristics of ETR, are often observed among patients with pityriasis folliculorum, a discreet demodicosis, suggesting a possible link between these conditions.

Objectives To compare the facial *Demodex* densities of patients with clinical ETR and patients with healthy skin, demodicosis, rosacea with papulopustules, and other facial dermatoses.

Methods In this retrospective study, we recorded *Demodex* densities measured using two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSB1 and SSSB2) in 23 patients with ETR, 20 healthy control patients, 590 patients with demodicosis, 254 with rosacea with papulopustules and 180 with other facial dermatoses.

Results Patients with ETR had higher *Demodex* densities ($D \text{ cm}^{-2}$) than did the healthy controls (mean \pm SEM; SSSB1: 15.7 ± 6.3 vs. $1.8 \pm 1.1 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.042$; SSSB2: 38.0 ± 13.7 vs. $5.1 \pm 2.1 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.026$) and patients with other dermatoses (SSSB1: $0.4 \pm 0.1 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.004$; SSSB2: $1.3 \pm 0.3 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.004$), but lower densities than patients with demodicosis (SSSB1: $82.7 \pm 4.2 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.008$; SSSB2: $172.2 \pm 7.7 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.001$) or rosacea with papulopustules (SSSB1: $86.6 \pm 7.3 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.027$; SSSB2: $197.0 \pm 12.1 D \text{ cm}^{-2}$, $P = 0.002$).

Conclusions ETR may be associated with nonvisible *Demodex* proliferation, possibly corresponding to a subclinical stage of demodicosis. Dermatologists should be aware of this potential association and look for subclinical demodicosis in patients with ETR, so that topical acaricidal treatment can be offered if *Demodex* density is high.

What's already known about this topic?

- The facial skin density of *Demodex* mites in patients with papulopustular rosacea and demodicosis (a skin condition caused by *Demodex*) is greater than that in healthy control patients.
- In patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR), facial *Demodex* density has been observed to be similar to or greater than that of healthy controls.
- Erythema and telangiectasia, characteristics of ETR, are often observed among patients with pityriasis folliculorum, a discreet demodicosis.

What does this study add?

- Patients with ETR had higher mean *Demodex* densities than healthy controls, but lower densities than patients with papulopustular rosacea or demodicosis.
- These findings suggest that ETR may be associated with *Demodex* proliferation, raising the possibility of a pathophysiological link between erythematotelangiectatic and papulopustular rosacea.
- At first, this proliferation may be subclinical, as suggested in 43% of our patients with ETR.

Rosacea and demodicosis are common dermatoses, but classification and diagnostic criteria are still controversial.^{1–7} The National Rosacea Society expert committee defines rosacea as a central-face distribution of at least one of four primary features: flushing, persistent erythema, papules and pustules, and telangiectasia. The committee identified four subtypes: erythematotelangiectatic rosacea (ETR), papulopustular rosacea (PPR), phymatous rosacea and ocular rosacea.¹ According to their definition, two key clinical features are considered necessary for a diagnosis of the ETR subtype (flushing and persistent centrofacial erythema) and two for the PPR subtype (persistent erythema and transient papulopustules).¹ Thus, using this definition,¹ patients with rosacea and papulopustules may or may not have the PPR subtype depending on the presence or absence, respectively, of persistent erythema.

Recently, the global ROSacea COnsensus (ROSCO) panel proposed a more phenotype-based approach to defining rosacea, with only two features – phymatous changes and persistent centrofacial erythema – considered as diagnostic.² According to this consensus, flushing and telangiectasia were considered as major features, but are not on their own diagnostic of rosacea. Therefore, telangiectasia due to photodamage was considered as different from that of ETR,² although they are difficult to differentiate clinically.

Demodicosis is, by definition, caused by *Demodex* mites, and can have various clinical manifestations: pityriasis folliculorum, rosacea-like demodicosis, follicular eczematids, *Demodex* folliculitis, demodectic prurigo, isolated inflammatory papules, demodectic postinflammatory pigmentation and ocular demodicosis.^{3–16} *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* are spindle-shaped transparent mites that live exclusively in human pilosebaceous follicles.¹⁷ A newborn child has no *Demodex* mites on his or her skin, and the mites are acquired by direct contact with the skin of other humans. The mites are present in low densities (0–5 D cm⁻²)^{18–32} as part of the normal human microbiota, but the physiological role of the mites is unknown.³³ When the mites proliferate excessively, they become visible as thin, discreet, regularly dispersed, whitish follicular scales; this first stage of demodicosis is called ‘pityriasis folliculorum’ (Fig. 1a).^{8–12,34} In this condition, diffuse flushing or erythema and telangiectasia, key features of ETR, are often observed.^{8–12,35} Subjective complaints (sensation of burning, pruritus, dry skin, hypersensitive skin, irregular or rough skin) may also be present.^{8–12,35} Despite the discreet

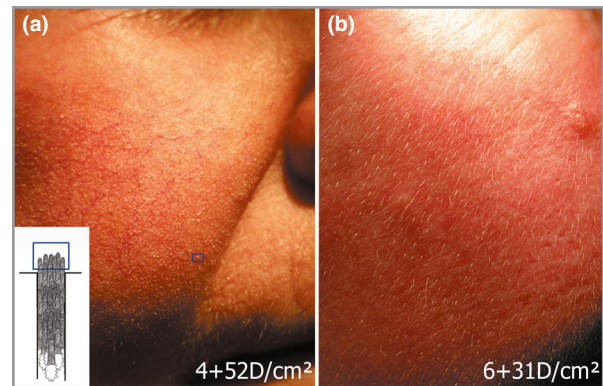


Fig 1. Demodicosis and subclinical demodicosis associated with erythematotelangiectatic rosacea. Right cheeks of two women with persistent erythema and telangiectasia. The *Demodex* densities obtained from two successive standardized skin surface biopsy (SSSB1 + SSSB2) are indicated on the figure. (a) A 64-year-old woman with discreet thin whitish follicular scales at the base of the hair, giving a frosted appearance and a rough texture, and suggesting a diagnosis of pityriasis folliculorum; this was confirmed by the diagnostic test. Each follicular scale corresponds to the most superficial part of numerous *Demodex* mites agglutinated on a single follicle (blue box). (b) A 45-year-old woman without visible follicular scales: these were not detected on close clinical examination even after cleaning the skin with ether and using tangential illumination, leading to the clinical diagnosis of erythematotelangiectatic rosacea. However, this patient had a high *Demodex* density, suggesting a possible diagnosis of subclinical demodicosis.

symptoms of pityriasis folliculorum, the *Demodex* density (Dd) in the skin of these patients is usually high,^{8–10} with values ranging from 7 to 61 D cm⁻² depending on the sampling method used and the population studied.^{11,12,27,36} When measured using two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs), we reported values as high as 285 ± 12 D cm⁻² (n = 445 patients).³⁷

Some time after the development of pityriasis folliculorum, a more inflammatory stage of the disease may occur: the immune system may be stimulated, likely as a result of mites penetrating the dermis or breaching the epithelium and causing an exaggerated (but not very effective) immune response, with appearance of the papules and pustules of demodicosis.^{12,38,39} Numerous studies have suggested that this exaggerated response may also lead to development of PPR.^{4,5,7,12,18–22,26,38–43} Nevertheless,

this pathophysiological hypothesis is controversial, with other authors suggesting that PPR is a primary disorder of the immune system, and proliferation of the mites in these patients is a secondary event.^{3,44,45} The Dd could then be considered simply a marker of disease.

In an analysis of 1044 patients who attended our dermatology clinic, we observed that mean Dds were much higher in patients with rosacea with papulopustules (with and without persistent erythema) and demodicosis than in healthy controls and patients with other facial dermatoses.²⁶ From our results, we proposed a diagnostic test for demodicosis and rosacea with papulopustules using two consecutive SSSBs taken from the same site (SSSB1 and SSSB2): the presence of 'a density > 5 D cm⁻² on SSSB1 or > 10 D cm⁻² on SSSB2' enabled confirmation of these clinical diagnoses with a sensitivity of 98.7% and a specificity of 95.5%.²⁶ These results need to be replicated in an independent cohort.

In patients with ETR, the Dd, assessed using one SSSB, has been observed to be similar to (5.1 D cm⁻² vs. 0.7 D cm⁻²;¹⁹ 1.7 D cm⁻² vs. 0.9 D cm⁻²)²¹ or higher than (4 D cm⁻² vs. 1 D cm⁻²)¹⁸ that in healthy control patients. In a prospective study, Dds assessed using polymerase chain reaction were similar in patients with ETR and those with PPR,⁴² but in another prospective study using reflectance confocal microscopy, Dd was higher in patients with PPR than in those with ETR, in whom it was higher than in the control group.⁴⁷ These findings are supported in a recent meta-analysis including a total of 1513 patients with rosacea (from 23 case-control studies, of which 12 had a maximum quality score of 9, five of 8, five of 7 and one of 6), which reported that Dds in patients with ETR were significantly higher than in control patients (standardized mean difference 2.7, 95% confidence interval 1.3–4.1) and lower than in patients with PPR (standardized mean difference –0.9, 95% confidence interval –2.0 to –0.2).⁴⁸

To our knowledge, Dds have not previously been studied in patients with ETR using two consecutive SSSBs. We therefore compared the Dds evaluated using this technique in patients with ETR with those of healthy controls, patients with rosacea with papulopustules, patients with demodicosis and patients with other facial dermatoses.

Patients and methods

Patients

This retrospective study was approved by the ethics committee of Erasme Hospital. Our patient cohort consisted of all patients who attended our dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010 for a first consultation with centropapules and/or pustules consistent with rosacea or signs of demodicosis. Each of these patients had two successive SSSBs performed, as is routine in our dermatology clinic. Patients with other facial dermatoses, healthy control patients and patients with ETR, in whom measurement of Dd is not routine, were also included if the consultation time was sufficient

for two SSSBs to be performed. Diagnosis of ETR was based on the presence of clinical symptoms, namely flushing, telangiectasia or/and persistent erythema. These patients were carefully examined to ensure they did not have pityriasis folliculorum, by tangential illumination and close examination after cleaning the skin with ether (Fig. 1).³⁵ Likewise, healthy control patients were carefully examined to ensure they did not have pityriasis folliculorum or ETR. Patients with an uncertain clinical diagnosis, young children (< 7 years old) and patients who had previously been treated for demodicosis were not included. For each patient, the date of consultation, age, sex, clinical diagnosis, location of the SSSBs and Dd values were recorded.

Sampling method

SSSB is a sampling method in which 1 cm² of the superficial part of the horny layer and its follicular content is collected.^{11,12,19,23–32,49–54} In our patients, the skin and the microscope slides were first cleaned with ether, and two SSSBs were then performed consecutively at the same place, allowing measurement of two Dds (superficial, SSSB1; and deep, SSSB2).²⁶ The SSSBs were performed at the site of the main skin lesions, preferably on the cheek if affected, because the highest Dds have been observed here.^{18,21}

Statistical analysis

Continuous variables are given as means and SEM and qualitative variables as percentages. We compared the Dds in patients with ETR with the Dds in the other groups. Differences in continuous variables were compared among groups using ANCOVA, including age and sex as covariates when required. Corrections for multiple comparisons performed on independent groups were realized using the Benjamini–Hochberg procedure.^{55,56} Differences in qualitative variables were compared among groups using exact Pearson χ^2 -tests.

Statistical significance was considered when the P-value was < 0.05. All statistical tests were two-tailed. They were performed using IBM-SPSS software (version 23.0 to 25.0; IBM, Armonk, NY, U.S.A.).

Results

Twenty-three patients with ETR underwent two consecutive SSSBs during the study period and were compared with 1044 patients from our previous study (254 with rosacea with papulopustules, 590 with demodicosis, 180 with other facial dermatoses and 20 healthy controls).²⁶ Among the 23 patients with ETR, the mean age was 56.2 years (range 34.2–82.6, SEM 3.2) and 18 (78%) were women. They were older than the patients in the four other groups, and were more likely to be female than patients with demodicosis (Table 1). The statistical method used for comparisons corrected for these differences in age and sex. There were no missing data.

Among the 23 patients with ETR, 22 had persistent centropapules and telangiectasia, and 13 had flushing. The

Table 1 Age and sex according to diagnosis

Clinical groups	Patients n	Age (years)			Women	
		Mean \pm SEM	Range	P-value	n (%)	P-value
ETR	23	56.2 \pm 3.2	34.2–82.6	–	18 (78)	–
Healthy controls	20	43.4 \pm 4.2	17.2–82.8	0.018	18 (90)	0.81
Other facial dermatoses ^a	180	35.8 \pm 0.9	11.1–81.2	0.002	132 (73.3)	0.81
Rosacea with papulopustules ^b	254	47.6 \pm 0.9	8.0–98.3	0.009	186 (73.2)	0.81
Demodicosis ^c	590	46.1 \pm 0.6	7.4–90.5	0.002	376 (63.7)	0.016

P-values concern the comparisons with the 23 patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR) after Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons. Some of the data have been published previously.²⁶ ^aPatients with other facial dermatoses: 70 acne vulgaris, 33 seborrhoeic dermatitis, 10 ulerythema ophryogenes, seven atopic dermatitis, eight contact dermatitis, seven dry skin (with eczematids), seven irritation dermatitis, six hyperpigmentation, five folliculitis, four perioral dermatitis, three chronic lupus erythematosus, 20 others. ^b215 with typical papulopustular rosacea (i.e. centrofacial papulopustules with persistent erythema) and 39 with other forms of rosacea with papulopustules (27 rosacea without persistent erythema, seven granulomatous rosacea, five steroid-induced rosacea). ^c445 pityriasis folliculorum, 80 follicular eczematids, 44 folliculitis, 14 demodectic postinflammatory pigmentation, six isolated inflammatory papules, one isolated ocular demodicosis.

cheek was the most frequent biopsy site in all patients: 23 of 23 (100%) for patients with ETR, 19 of 20 (95%) for healthy controls, 143 of 180 (79.4%) for patients with other facial dermatoses, 485 of 590 (82.2%) for patients with demodicosis and 225 of 254 (88.6%) for patients with rosacea with papulopustules.²⁶

Most of the patients with demodicosis (585 of 590, 99.2%) and rosacea with papulopustules (248 of 254, 97.6%) had a high Dd, as defined by our recent diagnostic criterion: SSSB1 $>$ 5 D cm⁻² or SSSB2 $>$ 10 D cm⁻².²⁶ Nineteen patients from other clinical groups also had a high Dd: 10 patients clinically diagnosed with ETR, three healthy controls and six patients with other dermatoses (Fig. 2).

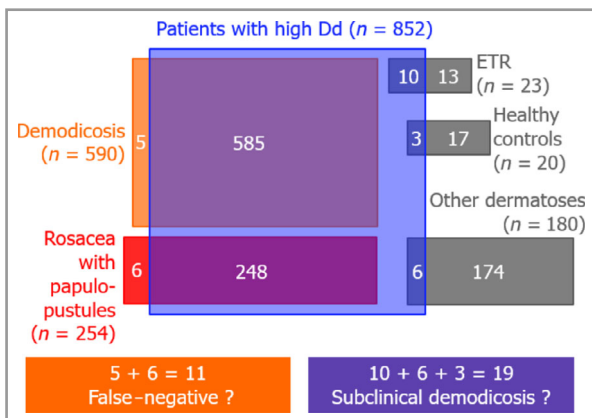


Fig 2. Distribution of the patients according to their clinical diagnostic group and their Demodex densities (Dds). Patients with high Dds are included in the large blue square; 833 of these patients had a clinical diagnosis of demodicosis or rosacea with papulopustules. The patients outside the large blue square all had normal Dds (n = 215). Nineteen patients (10 + 3 + 6) had high Dds but no visible signs of demodicosis or rosacea with papulopustules on clinical examination: these patients probably had subclinical demodicosis. ETR, erythematotelangiectatic rosacea.

Eight of the 23 patients (35%) with ETR had an SSSB1 $>$ 5 D cm⁻² and 10 (43%) had an SSSB1 $>$ 5 D cm⁻² or SSSB2 $>$ 10 D cm⁻² (Figs 1b, 2). The mean Dds were higher in the 23 patients with ETR than in the healthy control patients and the patients with other dermatoses, but lower than in the patients with rosacea with papulopustules and those with demodicosis (Table 2, Fig. 3).

Discussion

Using two consecutive SSSBs, we demonstrated that patients with ETR had higher facial skin Dds than did healthy controls and patients with other facial dermatoses, but lower densities than patients with demodicosis or rosacea with papulopustules.

As expected, most of our patients with demodicosis (585 of 590, 99.2%) and rosacea with papulopustules (248 of 254, 97.6%) had a high Dd, as defined by our recent diagnostic criterion: SSSB1 $>$ 5 D cm⁻² or SSSB2 $>$ 10 D cm⁻².²⁶ However, 19 patients from other clinical groups, including 10 with ETR, who were expected to have normal Dds, also had a high Dd. These high Dds were not clinically suspected by a dermatologist experienced in the diagnosis of demodicosis. These apparently 'false'-positive results may represent the start of demodicosis, with mites beginning to proliferate but not yet visible, resulting in a subclinical form of demodicosis without clinical signs or symptoms. Longitudinal studies are needed to confirm this hypothesis and demonstrate the evolution of this subclinical demodicosis into clinical demodicosis.

In a previous study,¹⁹ in which only one SSSB was performed, we observed that the mean Dd was higher in patients with ETR (n = 13) than in healthy controls (n = 45) (5.1 \pm 4.3 D cm⁻² vs. 0.7 \pm 0.3 D cm⁻²), although this difference was not statistically significant, likely because of the small number of patients. In our present study, SSSB1 among patients with ETR (15.7 \pm 6.3 D cm⁻²) was higher than in the previous study, perhaps because our ability to detect the mites has improved with time. Of note, the SSSB1 was high

Table 2 Comparison of the mean *Demodex* densities ($D\text{ cm}^{-2}$) in the different groups

Clinical groups	ETR	Healthy controls	Other dermatoses ^a	Rosacea with papulopustules ^b	Demodicosis ^c
Patients	23	20	180	254	590
SSSB1					
Mean \pm SEM	15.7 \pm 6.3	1.8 \pm 1.1	0.4 \pm 0.1	86.6 \pm 7.3	82.7 \pm 4.2
Median	3	0	0	39.5	43.5
Range	0–110	0–23	0–7	0–756	0–624
P-value	–	0.042	0.004	0.027	0.008
SSSB2					
Mean \pm SEM	38.0 \pm 13.7	5.1 \pm 2.1	1.3 \pm 0.3	197.0 \pm 12.1	172.2 \pm 7.7
Median	6	0.5	0	140	106
Range	0–244	0–35	0–27	0–1280	0–1256
P-value	–	0.026	0.004	0.002	0.001

P-values concern the comparisons with the 23 patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR) after Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons. Some of the data have been published previously.²⁶ ^aPatients with other facial dermatoses: 70 acne vulgaris, 33 seborrhoeic dermatitis, 10 ulerythema ophryogenes, seven atopic dermatitis, eight contact dermatitis, seven dry skin (with eczematids), seven irritation dermatitis, six hyperpigmentation, five folliculitis, four perioral dermatitis, three chronic lupus erythematosus, 20 others. ^b215 with typical papulopustular rosacea (i.e. centrofacial papulopustules with persistent erythema) and 39 with other forms of rosacea with papulopustules (27 rosacea without persistent erythema, seven granulomatous rosacea, five steroid-induced rosacea). ^c445 pityriasis folliculorum, 80 follicular eczematids, 44 folliculitis, 14 demodectic postinflammatory pigmentation, six isolated inflammatory papules, one isolated ocular demodicosis.

(> 5 $D\text{ cm}^{-2}$) in only eight of the 23 patients with ETR; the second SSSB taken from the same site enabled two more patients to be detected, supporting the increase in sensitivity obtained with our proposed diagnostic test combining the two SSSB results.²⁶

The higher mean Dd in patients with ETR than in healthy controls suggests that ETR may be a condition in which *Demodex* starts to proliferate or that ETR may favour *Demodex* proliferation; this hypothesis could also explain the variability in values among these patients with ETR, with different patients having different degrees of *Demodex* proliferation. It could also account for the fact that not all of the patients with ETR have high Dds and may explain why, although the majority of patients with ETR do not develop PPR, in patients who have both conditions, PPR is more often observed after ETR than the inverse.⁵⁷ Moreover, because the inflammatory reaction to *Demodex*^{38–41} includes vasodilation, our observations support the hypothesis of the existence of a vicious cycle between *Demodex* proliferation and vascular dilation.^{4,5}

Another hypothesis is that *Demodex* proliferation is an epiphenomenon, with the mite proliferating more inside already damaged follicles. However, this hypothesis is unlikely, because the follicular epithelium is interrupted ahead of the mites (because the mite eats the human cells).^{12,33,58,59} Moreover, Lacey et al. recently reported that, when present in large numbers, *Demodex* mites may trigger a host immune reaction by activation of the Toll-like receptor 2 pathway, providing evidence of a possible role in rosacea.⁴⁰

Interestingly, in our study, we also observed subclinical demodicosis in 15% of our healthy controls and 3% of patients with other dermatoses; this is compatible with the hypothesis that proliferation of the mite can occur without underlying ETR, perhaps as a result of sebaceous hyperplasia

or local immunosuppression (perhaps induced by the mites themselves, as demonstrated by Lacey et al.).^{4,5,12,40,60,61}

The possible existence of subclinical demodicosis has important clinical implications. Dermatologists should consider this diagnosis when faced with a patient with ETR. Presence of a high Dd in these patients should lead the dermatologist to consider treatment with a topical acaricidal treatment until the Dd normalizes. In our experience, such treatment can lead to improvement and even disappearance of erythema and subjective complaints, such as burning sensation, so that sometimes no supplementary treatment (such as laser) is necessary. Several topical treatments have been used to kill the mites, including sulfur or selenium (di)sulfide,^{8,62,63} salicylic acid,⁸ ammoniated mercury,⁸ permethrin,^{10,64,65} lindane,^{9,10,65,66} crocramiton,^{20,67–70} benzyl benzoate,^{12,13,66,69} tea tree oil^{71,72} and, more recently, ivermectin.^{73–76} In our practice, we have successfully used a 20% benzyl benzoate cream (with 10% crocramiton) for more than 20 years;⁶⁹ however, the development of ivermectin has provided an effective alternative with good tolerance^{75,76} and this is now our treatment of choice. Clearly, the effectiveness of treating subclinical demodicosis with an acaricide needs to be confirmed in prospective clinical trials.

Another important implication of the possible existence of subclinical demodicosis concerns clinical studies. Future clinical studies in patients with ETR, but perhaps also with other facial dermatoses (such as acne vulgaris or seborrhoeic dermatitis, which are relatively frequently associated with demodicosis),²⁶ should include measurement of Dd to identify or exclude possible associated subclinical demodicosis, so that patients are correctly characterized, thus reducing heterogeneity and possible confounding.

Our study has several limitations. Firstly, it was a retrospective study with no primary end point; therefore, no sample size

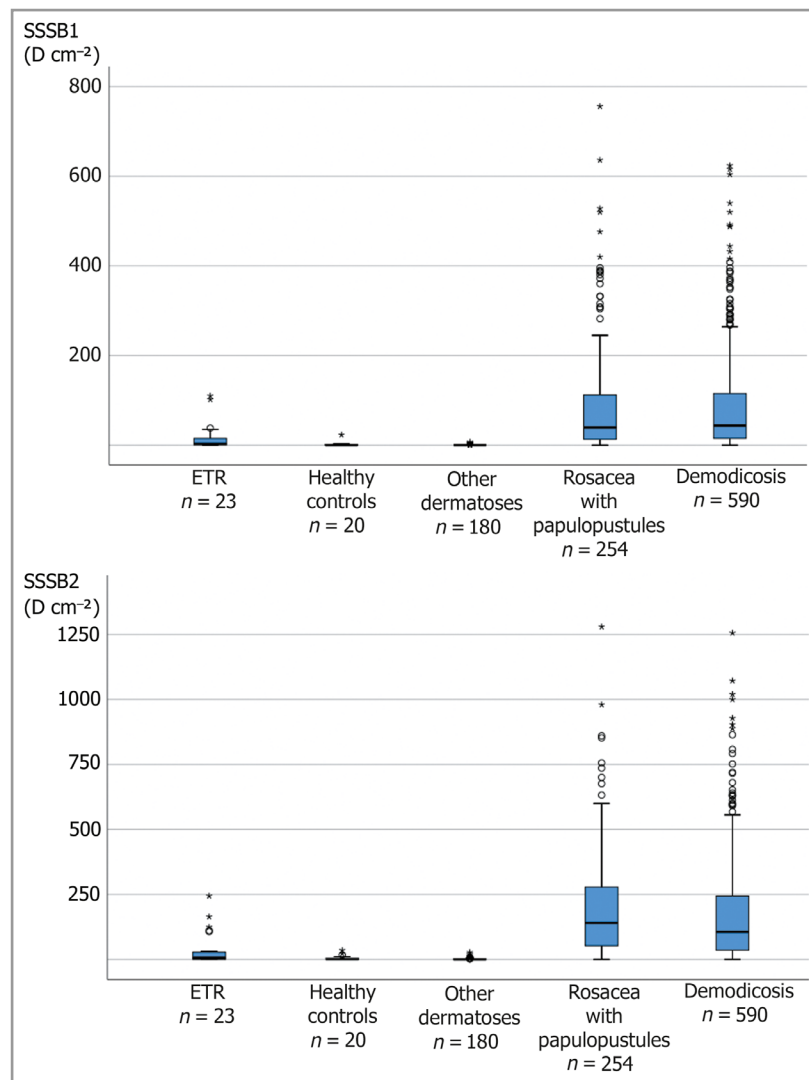


Fig 3. Demodex densities of the five compared groups (box plots). SSSB1, first superficial standardized skin surface biopsy; SSSB2, second, deeper standardized skin surface biopsy; D, number of *Demodex* mites; ETR, erythematotelangiectatic rosacea.

could be estimated in advance. Moreover, the only demographic variables collected were age and sex, so we were unable to control for other potential confounders. Secondly, the diagnosis of ETR was based on clinical signs as determined by an experienced dermatologist and not using the ROSCO panel consensus,² which was published after the end of our present study. Thirdly, as we did not routinely assess Dds in patients with ETR at the time of the study, we only included these patients when we had sufficient time to explain and perform the test. We therefore had only a relatively small number of patients with ETR in our cohort, and larger prospective studies are needed to confirm our findings.

In conclusion, in the early phases of demodicosis, proliferation of *Demodex* mites may not be clinically visible, potentially giving rise to subclinical demodicosis, particularly among patients with ETR. This observation raises the possibility of a pathophysiological link between ETR and PPR.

Acknowledgments

We thank M. Parmentier, V. del Marmol and C. Verhoeven for their constructive remarks, and K. Pickett for proofreading.

References

- 1 Wilkin J, Dahl M, Detmar M et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; **46**:584–7.
- 2 Tan J, Almeida L, Bewley A et al. Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea COnsensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; **176**:431–8.
- 3 Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**:1219–25.
- 4 Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC et al. Demodicosis: descriptive classification and status of rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**:829–32.

- 5 Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; **32**:1011–16.
- 6 Tatu AL, Clatici VG, Nwabudike LC. Rosacea-like demodicosis (but not primary demodicosis) and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease – a microbioma, therapeutic and diagnostic tools perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2019; **33**:e46–7.
- 7 Forton FMN, De Maertelaer V. Rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease, and pityriasis folliculorum may be their precursor. Response to the comment of Tatu. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2019; **33**:e47–8.
- 8 Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Dermatol Syphilol* 1930; **21**:19–24.
- 9 Ayres S Jr, Ayres S III. Demodectic eruptions (Demodicidosis) in the human. *Arch Dermatol* 1961; **83**:816–27.
- 10 Dominey A, Tschen J, Rosen T et al. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**:81–4.
- 11 Forton F, Germaux MA, Brasseur T et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**:74–87.
- 12 Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**:19–28.
- 13 Post CF, Juhlin E. Demodex folliculorum and blepharitis. *Arch Dermatol* 1963; **88**:298–302.
- 14 Morgan RJ, Coston TO. Demodex blepharitis. *South Med J* 1964; **57**:694–9.
- 15 Kim JH, Chun YS, Kim JC. Clinical and immunological responses in ocular demodicosis. *J Korean Med Sci* 2011; **26**:1231–7.
- 16 Liu J, Sheha H, Tseng SC. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; **10**:505–10.
- 17 Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; **15**:79–98.
- 18 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**:443–8.
- 19 Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**:650–9.
- 20 Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997; **27**:183–95.
- 21 Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; **37**:421–5.
- 22 El Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Abdel Aaty HE. The pathogenesis of Demodex folliculorum (hair follicular mites) in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 2001; **31**:867–75.
- 23 Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu AK et al. Is Demodex folliculorum larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; **16**:539–41.
- 24 Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. Demodex folliculorum in renal transplant patients. *Dermatology* 1997; **195**:232–4.
- 25 Aydingöz IE, Dervent B, Güney O. Demodex folliculorum in pregnancy. *Int J Dermatol* 2000; **39**:743–5.
- 26 Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 2017; **97**:242–8.
- 27 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE et al. Reflectance confocal microscopy vs. standardized skin surface biopsy for measuring the density of Demodex mites. *Skin Res Technol* 2014; **20**:435–9.
- 28 Seyhan ME, Karıncaoglu Y, Bayram N et al. Density of Demodex folliculorum in haematological malignancies. *Int Med Res* 2004; **32**:411–15.
- 29 Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N et al. Incidence of Demodex folliculorum in patients with end stage chronic renal failure. *Ren Fail* 2005; **27**:495–9.
- 30 Karıncaoglu Y, Tepe B, Kalayci B et al. Is Demodex folliculorum an aetiological factor in seborrhoeic dermatitis? *Clin Exp Dermatol* 2009; **34**:e516–20.
- 31 Lazaridou E, Apalla Z, Sotiraki S et al. Clinical and laboratory study of rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; **24**:410–14.
- 32 Dolenc-Voljc M, Pohar M, Lunder T. Density of Demodex folliculorum in perioral dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2005; **85**:211–15.
- 33 Lacey N, Ní Raghallaigh S, Powell FC. Demodex mites – commensals, parasites or mutualistic organisms? *Dermatology* 2011; **222**:128–30.
- 34 Crosti C. Demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. *J Cutan Pathol* 1983; **10**:257–61.
- 35 Forton FMN, De Maertelaer V. Rosacea and demodicosis: little-known diagnostic signs and symptoms. *Acta Derm Venereol* 2019; **99**:47–52.
- 36 Yun CH, Yun JH, Baek JO et al. Demodex mite density determinations by standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination and their relations with clinical types and distribution patterns. *Ann Dermatol* 2017; **29**:137–42.
- 37 Forton FMN. Elucidating the role of Demodex folliculorum in the pathogenesis of rosacea: exciting first steps... *Br J Dermatol* 2018; **179**:252–3.
- 38 Forton F. [Demodex and perifollicular inflammation in man: review and report of 69 biopsies]. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**:1047–58 (in French).
- 39 Hsu CK, Hsu MM, Lee JY. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**:453–62.
- 40 Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC et al. Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018; **179**:420–30.
- 41 Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD et al. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**:441–4.
- 42 Casas C, Paul C, Lahfa M et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; **21**:906–10.
- 43 Gur TF, Erdemir AV, Gurel MS et al. The investigation of the relationships of demodex density with inflammatory response and oxidative stress in rosacea. *Arch Dermatol Res* 2018; **310**:759–67.
- 44 Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med* 2007; **13**:975–80.
- 45 Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2011; **131**:688–97.
- 46 Jarmuda S, McMahon F, Zaba R et al. Correlation between serum reactivity to Demodex-associated Bacillus oleronius proteins, and altered sebum levels and Demodex populations in erythematotelangiectatic rosacea patients. *J Med Microbiol* 2014; **63**:258–62.
- 47 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE et al. Demodex mites in acne rosacea: reflectance confocal microscopic study. *Australas J Dermatol* 2017; **58**:e26–e30.
- 48 Chang YS, Huang YC. Role of Demodex mite infestation in rosacea: a systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol* 2017; **77**:441–7.
- 49 Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of Demodex folliculorum. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**:697–700.

- 50 Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for measurement of the density of *Demodex folliculorum*: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. *Br J Dermatol* 2010; **62**:1124–6.
- 51 Kligman AM, Christensen MS. *Demodex folliculorum*: requirements for understanding its role in human skin disease. *J Invest Dermatol* 2011; **131**:8–10.
- 52 Salem DA, El-Shazly A, Nabih N et al. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin–metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of *Demodex folliculorum*. *Int J Infect Dis* 2013; **17**:e343–7.
- 53 Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of *Demodex* mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog* 2014; **71**:2:37–40.
- 54 Karıncaoğlu Y, Mıman O, Kalaycı B et al. A demodicosis case which responded to systemic ivermectin. *Eur J Dermatol* 2009; **19**:189–90.
- 55 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Stat Soc B* 1995; **57**:289–300.
- 56 McDonald JH. Multiple comparisons. In: *Handbook of Biological Statistics* (McDonald JH, ed), 3rd edn. Baltimore, MD: Sparky House Publishing, 2014; 254–60.
- 57 Tan J, Blume-Peytavi U, Ortonne JP et al. An observational cross-sectional survey of rosacea: clinical associations and progression between subtypes. *Br J Dermatol* 2013; **169**:555–62.
- 58 Desch CE, Nutting WB. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977; **19**:422–62.
- 59 Bukva V, Nutting WB, Desch CE. Description of *Ophthalmodes apodemi* SP.N. (Acari: demodicidae) from the ocular area of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: muridae) with notes on pathogenicity. *Int J Acarol* 1992; **18**:269–76.
- 60 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicosis and HLA class I. *Exp Dermatol* 2003; **28**:70–3.
- 61 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**:440–4.
- 62 Ayres S Jr, Anderson NP. Acne rosacea. Response to local treatment for *Demodex folliculorum*. *JAMA* 1933; **100**:645–7.
- 63 Akbulatowa LX. Manifestations of the tick *Demodex folliculorum* in pruritic dermatosis of the face. *Vestn Dermatol Venerol* 1959; **6**:63–5.
- 64 Ivy SP, Mackall CL, Gore L et al. Demodicosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr* 1995; **127**:751–4.
- 65 Dominey A, Rosen T, Tschén J. Papulonodular demodicosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**:197–201.
- 66 Ruffi T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S [Demodex folliculorum: aetiopathogenesis and therapy of rosacea and perioral dermatitis]. *Dermatologica* 1981; **162**:12–26. (in German).
- 67 Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986; **15**:1159–62.
- 68 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**:915–17.
- 69 Forton F, Seys B, Marchal JL, Song AM. *Demodex folliculorum* and topical treatments: acaricide action evaluated by standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1998; **138**:461–6.
- 70 Bikowski JB, Del Rosso JQ. A retrospective analysis of clinical diagnosis and successful treatment with topical crotamiton. *J Clin Aesthetic Dermatol* 2009; **2**:20–5.
- 71 Gao YY, Di Pascuale MA, Li W et al. In vitro and in vivo killing of ocular *Demodex* by tea tree oil. *Br J Ophthalmol* 2005; **89**:1468–73.
- 72 Tighe S, Gao YY, Tseng SCG. Terpinen-4-ol is the most active ingredient of tea tree oil to kill *Demodex* mites. *Transl Vis Sci Technol* 2013; **2**:2.
- 73 Steinhoff M, Vocanson M, Voegel JJ et al. Topical ivermectin 10 mg/g and oral doxycycline 40 mg modified-release: current evidence on the complementary use of anti-inflammatory rosacea treatments. *Adv Ther* 2016; **33**:1481–501.
- 74 Schaller M, Gonser L, Belge K et al. Dual anti-inflammatory and anti-parasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**:1907–11.
- 75 Stein Gold L, Kircik L, Fowler J et al. Long-term safety of ivermectin 1% cream versus azelaic acid 15% gel in treating inflammatory lesions of rosacea: results of two 40-week controlled, investigator-blinded trials. *J Drugs Dermatol* 2014; **13**:1380–6.
- 76 Siddiqui K, Stein Gold L, Gill J. The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of rosacea: a network meta-analysis. *Springerplus* 2016; **5**:1151.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's website:

Powerpoint S1 Journal Club Slide Set.


4.2.7.2. Le power point d'accompagnement


Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis. A case control study.

F. FORTON and V. DE MAERTELAER


Free University of Brussels (ULB)

Br J Dermatol 2019



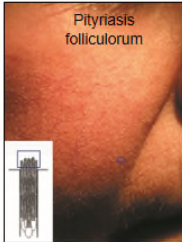




Fabienne FORTON
MD, Dermatologist
rue Frans Binjé, 8
B - 1030 Brussels
Belgium
e-mail: fabienne.forton@skynet.be



Introduction
What's already known?


- The facial skin density of Demodex mites (Dd) in patients with papulopustular rosacea (PPR) and demodicosis (a skin condition caused by Demodex) is greater than that in healthy control patients.
- In patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR), facial Dd has been observed to be similar to or greater than that of healthy controls.
- Erythema and telangiectasia, characteristics of ETR, are often observed among patients with pityriasis folliculorum, a discreet demodicosis.

Objective


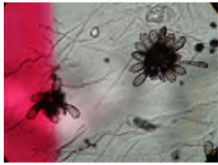

To compare the facial Demodex densities of patients with clinical ETR and patients with:

- healthy skin,
- demodicosis,
- rosacea with papulopustules,
- and other dermatoses.




Methods (1)

- retrospective study
- Demodex densities measured using two consecutive standardised skin biopsies: superficial (SSSB1) & deeper (SSSB2)
- In:
 - 23 patients with ETR,
 - 20 healthy control patients,
 - 590 patients with demodicosis,
 - 254 with rosacea with papulopustules,
 - 180 with other facial dermatoses.

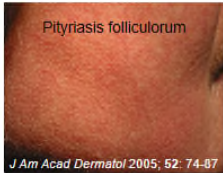

Methods (2) Study population

- Patients attending dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010:
- All patients for a first consultation with centro-facial papules and/or pustules consistent with rosacea or signs of demodicosis (2 SSSBs performed = routine in our practice)
- Other patients, in whom measurement of Dd is not routine, were included if consultation time was sufficient for two SSSBs to be performed




Methods (3) Clinical Diagnosis

- ETR: flushing, telangiectasia or/and persistent erythema.
- + carefully examined to ensure they did NOT have pityriasis folliculorum (by tangential illumination and close examination after cleaning the skin with ether)

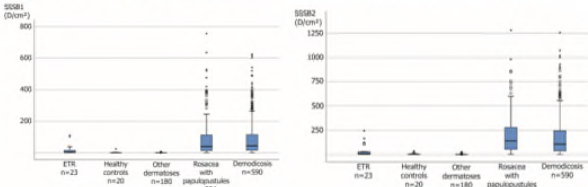

Healthy control patients also carefully examined to ensure they did NOT have pityriasis folliculorum or ETR.

J Am Acad Dermatol 2005; 52: 74-07



Results(1) Mean Demodex densities:

- in patients with rosacea with papulopustules & with demodicosis > in patients with ETR
- in patients with ETR > in patients with healthy skin or other facial dermatoses

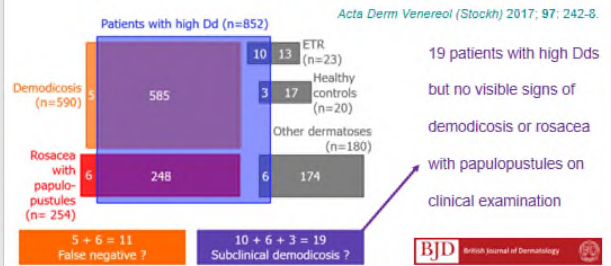
Results (2) Comparison of the mean Demodex densities (D/cm²) in the different clinical groups.

Clinical Groups	Patients	SSSB1					SSSB2				
		n	mean ± SEM	Median	Min-Max	p	mean ± SEM	Median	Min-Max	p	
ETR	33	16.7 ± 6.0	3.0	0 - 110	-	33.0 ± 12.7	8.0	0 - 244	-		
Healthy controls	20	1.8 ± 1.1	0.0	0 - 23	0.042	5.1 ± 2.1	0.5	0 - 35	0.026		
Other dermatoses*	183	0.4 ± 0.1	0.0	0 - 7	0.004	1.3 ± 0.3	0.0	0 - 27	0.004		
Rosacea with papulopustules†	254	86.6 ± 7.3	39.5	0 - 756	0.027	197.0 ± 12.1	140.0	0 - 1280	0.002		
Demodicosis‡	590	82.7 ± 4.2	43.5	0 - 624	0.008	172.2 ± 7.7	106.0	0 - 1256	0.001		

* values compared with the 33 patients with ETR after Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons.
† patients with other facial dermatoses: 79 acne vulgaris, 33 seborrheic dermatitis, 10 erythema migrans, 7 atopic dermatitis, 8 contact dermatitis, 7 dry skin (+ xerosis), 7 irritant dermatitis, 8 hyperpigmentation, 6 folliculitis, 4 perioral dermatitis, 3 chronic lupus erythematosus, 29 others.
‡ The typical PPP (i.e. demodicoid papulopustules with persistent erythema), and those with other forms of rosacea with papulopustules (27 rosacea without persistent erythema, 7 granulomatous rosacea, 6 steroid-induced rosacea).
§ 445 pityriasis folliculorum, 30 follicular eczematoid, 44 folliculitis, 14 demodella post-inflammatory pigmentation, 8 isolated inflammatory papules, 1 isolated rosacea demodetic.
¶ Some of the data have been published previously.
ETR: erythematotelangiectatic rosacea, PPP: papulopustular rosacea, SEM: standard error of the mean, Min-Max: standardized skin surface biopsy.

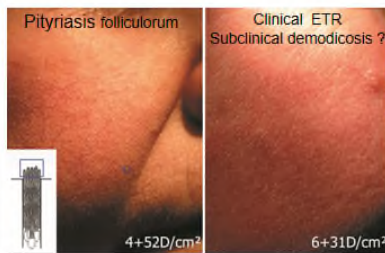
9

Results (3) According to the recent diagnostic criterion: SSSB1 >5 D/cm² or SSSB2 >10 D/cm²



10

Discussion (1) "subclinical demodicosis"



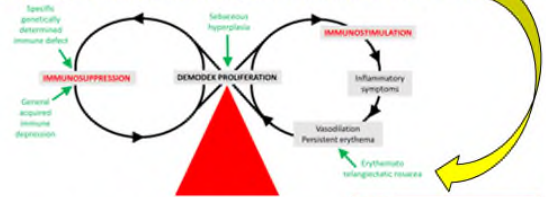
19 patients, including 10/23 with ETR, who were expected to have normal Dds, had a high Dd = may represent the start of demodicosis

11

Discussion (2) This suggests that ETR may favour D proliferation

And, because the inflammatory reaction to Demodex includes vasodilation, our observations support the hypothesis of the existence of

a vicious cycle between Demodex proliferation and vascular dilation



J Eur Acad Dermatol Venereol 2016; 32:1011-6.

12

Discussion (3) Important clinical implications

- Dermatologists should consider a diagnosis of subclinical demodicosis when faced with a patient with ETR and measure Dd; when high, use topical acaricidal treatment (e.g., ivermectin OR 20% benzyl benzoate [with 10% crotonitron] cream) until the Dd normalises.
- Future clinical studies in patients with ETR, but perhaps also with other facial dermatoses (such as acne vulgaris or seborrheic dermatitis, which are relatively frequently associated with demodicosis), should include measurement of Dd to identify or exclude possible associated subclinical demodicosis, so that patients are correctly characterised.

13

Conclusions: What does this study add?

- Patients with ETR had higher mean Demodex densities than healthy control subjects and patients with other dermatoses, but lower densities than patients with rosacea with papulopustules or demodicosis.
- In the early phases of demodicosis, proliferation of Demodex mites may not be clinically visible, potentially giving rise to subclinical demodicosis, particularly among patients with ETR.
- These findings suggest that ETR may be associated with Demodex proliferation, raising the possibility of a pathophysiological link between erythematotelangiectatic and papulopustular rosacea.

14

The research team



Viviane DE MAERTELAER
MSc, PhD, Statistician
Free University of Brussels (ULB)



Fabienne FORTON
MD, Dermatologist, Brussels

15

Call for correspondence

- Why not join the debate on this article through our correspondence section?
- Rapid responses should not exceed 350 words, four references and one figure
- Further details can be found [here](#)

16

4.2.7.3. Commentaires

La densité moyenne en Demodex de nos 23 patients atteints de RET est donc une **densité intermédiaire** : plus élevée que celles des contrôles sains et des patients avec d'autres dermatoses faciales, mais plus faible que celles des patients avec PPR-suggestive ou démodécie, indépendamment des différences d'âge et de sexe des groupes de patients. Nous émettons l'hypothèse que les patients qui n'ont pas de signes cliniques de démodécie ni de rosacée mais qui ont malgré tout une densité en Demodex élevée sont probablement des **démodécies débutantes « subcliniques »**.

Cette hypothèse est aussi illustrée par le cas clinique de l'article précédent (§ 4.2.5.) où la patiente a, au départ, une peau apparemment saine sur la joue gauche avec une Dd un peu trop élevée et développe ensuite une RPP à cet endroit.

Le fait que les démodécies débutantes subcliniques soient particulièrement fréquentes dans le groupe des RETs soutient l'hypothèse que la RET est un état favorisant la pullulation du parasite, ou qu'un facteur commun induit les deux situations, ce qui est compatible avec toutes les autres observations.

Cette densité moyenne en Demodex intermédiaire des patients avec RET n'est pas retrouvée par tous : Huang *et al* et Tas *et al* trouvent une densité similaire dans leurs groupes de RET et de RPP,^{550,552} et Casas *et al* trouvent même une densité en Demodex beaucoup plus haute parmi les patients atteints de RET que parmi ceux atteints de RPP (quasi doublée, mais non statistiquement significativement différente).²¹³ Nous pensons que, dans ces études, les démodécies subcliniques ne suffisent pas à expliquer ces Dds anormalement élevées dans les groupes des RETs ; il est très probable que les patients avec pityriasis folliculorum n'aient pas été exclus des groupes avec RET, car les auteurs ne spécifient pas qu'ils les ont exclus. Ils ne mentionnent même pas le terme de pityriasis folliculorum, ils l'ignorent... tout simplement (§ 1.5.). Et dans ce cas, cela explique la très haute Dd chez leurs patients avec « RET ». De façon similaire, d'autres études ont probablement fait la même erreur en ce qui concerne leur groupes contrôles « sains », car ils y observent une Dd moyenne anormalement élevée : (a) par CLM, d'environ 88 D/cm² (par rapport à 400 D/cm² chez leurs patients avec rosacée),³⁴⁵ ou même de 200 D/cm²;²⁴⁰ ou (b) par SSSB, de 14 D/cm²,²⁴³ ou 214 D/cm² (0-384 D/cm²) en additionnant 2 SSSBs successives avec une technique légèrement modifiée.⁵⁴⁰ Ainsi **les démodécies, fortement sous-diagnostiquées,^{2,126-129} s'infiltrèrent probablement dans beaucoup d'études cliniques** sans que les auteurs en aient conscience, ce qui est explicable par les directives de diagnostic des autorités dermatologiques (§ 1.5.). Nous devons donc prendre avec beaucoup de prudence les études cliniques quand les auteurs ne précisent pas qu'ils ont fait particulièrement attention à ne pas inclure des pityriasis folliculorum dans leur groupe contrôle ou/et RET : dans ce cas, il est probable qu'elles

analysent en réalité des groupes inhomogènes de RET ou/et contrôles « sains » contenant un grand nombre de démodécies.... sans compter les démodécies subcliniques.

S'il paraît de plus en plus évident que la RET est un état favorisant la prolifération du Demodex, la voie empruntée n'est pas encore élucidée. Une hypothèse est que la vasodilatation augmenterait la température cutanée, et comme la température influence le comportement du parasite,⁸⁹ elle pourrait favoriser leur copulation. Mais la plus haute température de la peau, même si elle augmente pendant les flushes,⁵⁶⁹ n'a pas pu être confirmée chez les patients avec RET ou RPP,⁵⁷⁰ ni être mise en relation avec l'infestation par le Demodex.²²² Une autre hypothèse, que nous n'avons pas formulée dans l'article présent (car nous ne l'avons élaborée que par la suite), est que les glucocorticoïdes endogènes⁵⁷¹ ou/et le **VEGF**,³⁶⁰ augmentés dans les RETs (et les RPPs), pourraient induire une **immunodépression locale favorisant la prolifération des parasites**. Cette hypothèse est développée dans le § 5.2.1.1. A.4.b.

Outre la RET, d'autres facteurs favorisant la prolifération des parasites ont été évoqués dans la littérature. Nous en avons exploré certains dans l'article suivant (§ 4.2.7.).

4.2.7. Influences potentielles

Les études qui explorent les facteurs favorisant la prolifération du Demodex se basent le plus souvent sur la prévalence du parasite, ce qui est une notion biaisée, puisque la prévalence du Demodex est de 100% chez l'adulte (§ 1.1.3.).

Nous avons donc analysé non pas la prévalence mais bien la densité en Demodex en fonction de différents paramètres, et ce pour la première fois, avec nos deux SSSBs successives.

Les paramètres potentiellement influents sur la Dd ont été relevés parmi nos patients PPR-suggestive et démodécie, et certains également parmi les contrôles sains et patients avec autres dermatoses faciales.

4.2.7.1. L'article soumis

L'article a été soumis à " The Journal of Dermatology » le 18/01/2021.

La version soumise est reproduite ci-après : identique à l'épreuve soumise quant au contenu, elle en diffère concernant la forme (pour des raisons de présentation, elle est ici en bleu, en simples interlignes, et avec les figures et le tableau avant les références).

Which factors influence Demodex proliferation?

A retrospective pilot study highlighting a possible role of subtle immune variations and sebaceous gland status.

Running title: Factors influencing Demodex densities

F. M. N. Forton MD¹ and V. De Maertelaer MSc, PhD²

¹ Dermatology Clinic, rue Frans Binjé 8, Brussels, Belgium

² Université libre de Bruxelles (ULB), Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie humaine et moléculaire (IRIBHM), Brussels, Belgium

ABSTRACT

Demodex folliculorum and *brevis* are commensal mites that live in low densities in human pilosebaceous follicles as part of the normal adult microbiota, but that give rise to demodicosis and, possibly, rosacea, when they proliferate excessively. This proliferation is favored by various factors, including age, marked immunosuppression, sebaceous gland hyperplasia, and hypervascularization-related factors. To study possible factors influencing mite proliferation, we explored the effects of different variables on Demodex densities (Dds) in a retrospective study of two groups of subjects selected on the basis of their clinical diagnosis: Demodex+, consisting of subjects with demodicosis or with centrop facial papulopustules suggesting rosacea (n=844, mean Dd 263.5±8.9 D/cm²), and Demodex-, consisting of subjects with other facial dermatoses or healthy facial skin (n=200, mean Dd 2.3±0.4 D/cm²). Dds were measured using two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSB1 [superficial] and SSSB2 [deep]) taken from the same facial site on each subject. In the Demodex+ group: the SSSB1 decreased with age in women (p=0.004), and the SSSB2 increased with age in men (p=0.001) (the pattern was similar for SSSB1+2, but not statistically significant); Dds were lower in those who had received cortisone (either topically or systemically); 13 subjects (1.5%) had known immunosuppression, 62 (7.3%) had hypothyroidism, and in 20 (3.6% of the women) there was a reported link with pregnancy; 78 of the subjects (9.2%) were part of a pair from the same family or household; when associated bacterial infection was suspected, *Staphylococcus epidermidis* was often isolated. Our results suggest close interactions between the mite, sebaceous gland size and function, and subtle variations of immune status. Potential factors influencing Demodex proliferation should be further investigated, including hypothyroidism, pregnancy, corticosteroid administration, *Staphylococcus epidermidis*, contagiousity, and genetic background.

Key words: Rosacea; demodicosis; hypothyroidism; sebaceous gland; immunity; cortisone.

INTRODUCTION

Demodex folliculorum and *brevis* are commensal mites that live in low densities in human pilosebaceous follicles as part of the normal adult microbiota.^{1–15} They are acquired progressively by direct contact with the skin of other humans,^{4,5,7–9} mainly within families,² and then slowly proliferate over time, under probable control of the host immune system, which they can modulate for their own survival.^{16–21} The Demodex density (Dd) thus increases with age.^{4,9,22–33} Many factors have been reported to favor proliferation of the Demodex mite, including immunosuppression,^{25,34–37,37–51} hypervascularization-related factors^{18,52–61} (likely via vascular endothelial growth factor [VEGF],²¹ which has immunosuppressive properties⁶²), lack of use of soap combined with cosmetic overuse,^{63–66} male sex,^{22,26,67–69} high concentration of sebaceous glands^{5,15,28,70} (such as on the cheeks^{11,23,71,72}), sebaceous hyperplasia,^{9,13} and poor blood glucose control.^{25,49–51} Other factors (e.g., low skin moisture,^{23,72} low sebum quantity,^{72–74} altered sebum composition,^{72,75} and skin alkalinity⁷⁵) may be more a consequence of Demodex proliferation than a cause, because Demodex proliferation probably disturbs sebaceous gland function in the same way it induces Meibomian gland dysfunction on the eyelashes.^{18,76–79}

When the mites proliferate excessively, they become pathogenic, inducing demodicosis^{18,52,63–66,76,80–91} and probably, although still controversial,^{87,92} the inflammatory symptoms of rosacea.^{17,18,21,52–55,93–96} The concept that the mite is a trigger^{56,97–100} for rosacea and that high Dds may be a marker of the disease^{13,101} is beginning to be accepted.

Recently, using two standardized skin surface biopsies (SSSBs) performed consecutively at the same place (Fig. 1), we confirmed that mean Dds were much higher in subjects with centro-facial papulopustules suggesting rosacea (PPR-suggestive) and demodicosis than in healthy controls and subjects with other facial dermatoses.¹³ By grouping the PPR-suggestive and demodicosis subjects into a single Demodex+ group and other subjects into a Demodex- group, we identified optimal cut-off SSSB (superficial [SSSB1] and deep [SSSB2]) values to differentiate between “normal” and “abnormal” Dds in these patients. The criterion “a SSSB1 > 5 D/cm² OR a SSSB2 > 10 D/cm²” had a sensitivity of 98.7% and specificity of 95.5% for a diagnosis of rosacea or demodicosis, providing a valuable diagnostic tool for dermatologists in routine clinical practice.¹³

In this article, we explored these Demodex+ and Demodex- groups further to assess factors that may influence Demodex proliferation.

METHODS

This retrospective study was approved by the Erasme Hospital Ethics Committee¹³ and included two groups of patients. All subjects attending our dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010 with a clinical diagnosis of demodicosis (n=590) or PPR-suggestive (n=254: 215 patients with typical PPR [i.e., centro-facial papulopustules with persistent erythema]¹⁰² and 39 with other forms [27 centro-facial papulopustules without persistent erythema, 7 granulomatous rosacea, 5 steroid-induced rosacea]) were included in a Demodex+ group (n=844).¹³ According to our routine practice, each of these subjects had two consecutive SSSBs performed at the site of the main skin lesions (preferably on the cheek if affected, because the highest Dds have been observed here) (Fig. 1).^{11,71} This procedure enables measurement of superficial and deep Dds, and calculation of their sum (SSSB1+2), as previously

described.¹³ Bacteriological smears were performed only when bacterial infections were also suspected.

Measurement of Dd is not routine in subjects with other facial dermatoses or in those with healthy facial skin, so such subjects were only included if the consultation time allowed for two SSSBs to be performed (Demodex- group [n=200: 180 with other facial dermatoses and 20 with healthy facial skin]).¹³

For each subject, we recorded their age, sex, and whether or not they regularly used soap on the facial skin. For the Demodex+ subjects, we also recorded topical treatments that had been applied to the facial dermatosis within the past 3 months or longer ago, treatments used for other health problems, general health status (known immunodepression [as a result of illness or treatment] present or existing when the facial dermatosis began, repeated infections, diabetes, thyroid disease), and personal history of atopy. Some subjects spontaneously reported a link between development of their skin condition and pregnancy, which was then recorded. Although we did not routinely look for familial cases, presence of a known case of demodicosis or PPR among the subject's family or household was recorded.

Statistical analysis

Continuous variables are given as means and standard error of the mean (SEM) and qualitative variables as percentages. Differences in the means of continuous variables were compared among groups using Student t-tests in case of two groups. Differences in qualitative variables were compared using exact Pearson chi-square tests. Variation according to age was analyzed separately for men and women using linear regression models. Statistical significance was considered for $p < 0.05$. All statistical tests were performed using IBM-SPSS (version 22.0 to 27.0) software (IBM Corp, Armonk, NY, USA).

RESULTS

Among the 1044 subjects, the mean age was 44.6 ± 0.5 years (range: 7.4–98.3); 712 (68.2%) were women. Subjects in the Demodex- group (mean SSSB1+2: 2.3 ± 0.4 D/cm²) were younger (36.5 ± 0.9 vs. 46.5 ± 0.5 years, $p < 0.001$) and more likely to be female (150/200 [75.0%] vs. 562/844 [66.6%], $p = 0.023$) than subjects in the Demodex+ group (mean SSSB1+2: 263.5 ± 8.9 D/cm²). From about 40 years of age, the relative proportion of Demodex+ subjects increased with age (Fig. 2). In the Demodex- group, women were older than men (38.1 ± 1.1 vs. 31.9 ± 1.8 years, $p = 0.005$) and their SSSB2 and SSSB1+2 increased with age (Fig. 3). Among the subjects for whom data on soap use were available, the proportion that regularly used soap was similar in Demodex+ and Demodex- subjects (349/833 [41.9%] vs 62/149 [41.6%], $p = 0.948$).

Demodex+ Group

1. Age and sex

In the Demodex+ group, the mean age was not significantly different in men and women. Dds varied according to sex, with the mean SSSB2 and SSSB1+2 higher in men than in women (Table 1). The SSSB1 decreased with age in women ($p = 0.004$), and the SSSB2 increased with age in men ($p = 0.001$); the same tendency was present for SSSB1+2 (decreasing in women: $p = 0.069$; increasing in men: $p = 0.062$) (Fig. 3).

2. SSSB site and use of soap

SSSB2 and SSSB1+2 values were lower on the nose than elsewhere (Table 1). There were no statistically significant differences in mean Dds according to whether or not soap was used (respective p values for SSSB1, SSSB2 and SSSB1+2, p= 0.710, 0.771 and 0.944).

3. General health status and pregnancy

Only 13 (1.5%) subjects were known to be immunosuppressed (4 immunosuppressive disease, 8 immunosuppressive treatment, 1 both). One subject was pregnant, 4 had a history of recurrent infections, 16 of diabetes, and 76 of thyroid disease (62 hypothyroid, 1 hyperthyroid, 11 euthyroid and 2 unknown); 234 had a personal history of atopy.

Twenty of the 562 women (3.6%) reported a link with pregnancy: 15 said the skin condition appeared during pregnancy (Fig. 4a) and 5 that it worsened during or just after pregnancy.

4. Medication

a. Prior treatments for demodicosis or rosacea

Among the 831 subjects (98%) for whom the information was available, 372 (45%) had received prior treatment for their skin condition: acaricidal treatments (n=85), metronidazole (69 topical, 6 oral), oral tetracyclines (n=72), topical cortisone (n=69), topical antibiotic (n=57), anti-mycotic treatment (oral or topical, n=30), oral isotretinoin (n=21), topical anti-mycotic+corticoid (n=19), topical retinoids (n=10), vascular lasers (n=10), clonidine (n=5), peeling treatments (n=4), antiseptic solutions (n=4), azelaic acid (n=2), and other treatments (n=37); some subjects received more than one treatment. There were no statistically significant differences in the mean Dds in subjects who had received recent treatment (n=209), less recent treatment (n=163), or no treatment (n=459).

Among the 163 subjects who had only received treatment >3 months previously, there were no statistically significant differences in the mean Dds across the different treatments. In the 209 subjects who had received more recent treatment, subjects who had received an acaricidal agent (n=28) or a topical “anti-mycotic+corticoid” (n=10) treatment had lower SSSB2 and SSSB1+2 values than those who had received another recent treatment (Table 1). In a subgroup analysis in subjects who had not recently received an oral/systemic immunosuppressive agent or cortisone (for their facial dermatosis or other condition, n=816), the 7 subjects with recent topical “anti-mycotic+corticoid” only (i.e., no other recent treatment) had a lower SSSB1+2 than the 601 without any recent treatment (122 ± 33 vs 268 ± 10 D/cm², p=0.004). The same tendency was observed for the 15 patients with recent acaricidal treatment only (171 ± 46 vs 268 ± 10 D/cm², p=0.140).

b. Medication for other conditions, and the contraceptive pill

Among the 832 subjects for whom the information was available, 467 (56.1%) were taking at least one medication for conditions other than their skin disease, including 231 women taking the contraceptive pill. There were no statistically significant differences in the mean Dds in the 139 women taking only a contraceptive pill and the 191 women taking no medication (Table 1). The 325 subjects who were taking at least one medication other than the contraceptive pill were older than the 360 who were not (54.3 ± 0.9 vs 42.2 ± 0.7 years; p<0.001), but Dds were not significantly different (Table 1).

c. Cortisone (for facial dermatosis or other conditions)

A total of 87 (10.3%) subjects had been recently exposed to cortisone, either topically (n=63) or orally/by inhalation (n=24). The mean SSSB1 and SSSB1+2 in these subjects were significantly lower than those in the 757 subjects not exposed to cortisone (Table 1).

5. Bacterial infections

Bacteriological smears were performed in 19 subjects; culture results showed *Staphylococcus aureus* (n=1), *Staphylococcus epidermidis* (n=11), Gram-positive cocci but no pathogenic bacteria (n=5), and no bacteria detected (n=2) (Fig. 4d).

6. Familial cases

Seventy-eight of the subjects had another family or household member who also consulted, forming 39 pairs: in nine of the pairs, the subjects had no genetic link but were living together, and in 30 pairs, the subjects were genetically related (25 “parent/child” and 5 “brother/sister”) (Fig. 4e,f).

DISCUSSION

The main findings of our study were that female sex and cortisone exposure were associated with lower Dd values in the patients with high Dds. There was a tendency for the Dds to decrease with age in women and to increase with age in men. There was a high prevalence of hypothyroidism in our Demodex+ patients.

1. Age and sex

Dds increased with age in our subjects as reported previously.^{4,9,22–33} Demodex proliferation is probably favored by the development of sebaceous glands during puberty^{4,9} and later by the slow decrease with age of T-cell mediated immunity,¹⁰³ which is implicated in the response to mite proliferation.^{17,96,104–106}

In the Demodex- group, there were no significant difference in Dds in men and women, which may be expected because of the low densities overall in that group. Nevertheless, there was a small increase in Dd with age in women, which may be explained by the presence of more subjects with subclinical demodicosis in older age groups,⁵⁴ as an indirect consequence of increasing proliferation of Demodex with age.

In the Demodex+ group, the higher mean total Dd in men than in women was particularly evident among older subjects because the Dd tended to decrease with age in women and to increase in men. These observations are compatible with most previous studies in subjects with rosacea and demodicosis^{4,9,22,22–33,67} and with the plateau effect observed from age 60-65 years in the general population^{23,107}: after a certain age, the decrease in Dd in women may counterbalance the increase in men, thus creating an apparent plateau. The differences in Dd with age and sex may be explained by the influence on Demodex proliferation of the size and density of sebaceous glands/pilosebaceous follicles, the production of which is regulated by androgens and varies with age and sex.¹⁰⁸

The mites are dependent on the pilosebaceous follicles for habitat and nutrition,^{1,8,18,104,109–111} and it is here that immunotolerance is observed.¹¹² These factors explain why the mites are only found in skin areas rich in sebaceous glands^{5,15,70,109} and why their number increases when sebaceous gland density increases.²⁸ Gland size and density appear more important for Demodex

proliferation^{1,18} than does sebum quantity (which is not correlated with follicular density).¹¹³

The influence of androgens on sebaceous glands explains why glands are larger in men,¹¹⁴ and why pilosebaceous follicles involute with age,^{103,107,115–117} an effect more marked in women.¹¹⁷ With age, the density of hair follicles on the face decreases¹⁰³ and sebaceous glands paradoxically become larger rather than smaller, but their secretory output is reduced as a result of decreased cellular turnover, an effect that occurs 10 to 20 years earlier in women than in men.^{103,115–117} Gland involution in older age is therefore probably responsible for a mite saturation effect, occurring earlier in women. This indirect influence of androgens on Dd, may also help explain why a higher Dd has been observed in subjects with polycystic ovary syndrome,¹¹⁸ why subjects with acne may be infested,^{13,69,119} why *D. brevis* prevalence may correlate with acne severity,⁶⁹ and why demodicosis and rosacea are frequently present concurrently with seborrheic dermatitis⁵⁹ or acne vulgaris.^{9,52,59,69,85,87,102,107,119–123}

2. SSSB site and use of soap

Although the age and sex effects suggest the importance of sebaceous gland size and density on Dds, our study paradoxically also showed that Dds on the nose (with large sebaceous glands) although high, were lower than elsewhere on the face, as also reported in other studies.^{11,22,71,72,109} A possible explanation for this finding could be that these large glands may mostly favor the mites that live deep inside sebaceous glands (*D. brevis* and a short-bodied transparent form of *D. folliculorum*),¹²⁴ thus, not effectively detected by SSSB.¹²⁵ Indeed, one histological study suggested a higher proportion of *D. brevis* to *D. folliculorum* (long-bodied phenotypes) on the nose than on other facial areas tested.¹⁰⁹ The deeper mites may compete with the more superficial ones, thus limiting their proliferation. Alternatively, do the pilosebaceous follicles of the nose have other characteristics (e.g., shorter infundibula) that could limit the proliferation of superficial *D. folliculorum*? It would be interesting to reliably measure the density of the mites living deeper inside the sebaceous glands, and to compare the value on the nose with that on other parts of the face (e.g., the cheeks), in subjects with and without rhinophyma. Indeed, as men have larger sebaceous glands than women, as the density of pilosebaceous follicles is highest on the nose,¹¹³ and as Demodex interrupts the epidermal barrier leading to a chronic inflammatory and dermal fibrosis reaction,¹²⁶ a greater *D. brevis* proliferation on the nose than elsewhere may explain why men are more likely to develop rhinophyma than women.¹²⁷

In 1932, Ayres suspected that not washing the face with soap, combined with excessive use of cosmetic creams, could favor abnormal mite proliferation.^{63–66} The influence of hygiene has been confirmed in other studies,^{107,128} but in our study, use of soap did not seem to influence the Dd^{9,85,86} likely because our subjects' hygiene was generally good even if they did not use soap.

3. General health & pregnancy

Although immunodepression of various origins^{16,34–40,43–47,129–139} (including use of corticoids^{11,73,107,140,141}) may promote Demodex proliferation, demodicosis^{64,86,142–146} and rosacea generally occur in subjects who are otherwise apparently in good health.^{12,13,85} Among our Demodex+ subjects, marked immunodepression was rare. Diabetes and a history of atopy were present in similar frequencies to those reported in the general population,^{147–149} although the prevalence of hypothyroidism (7.3%) was almost twice that of all combined thyroid disorders in Brussels (about 4%) during

the same period as our study.¹⁵⁰ Among the limited epidemiological data available, it is interesting to note that the incidence ratio of hypo-:hyperthyroidism was 2:1 in Brussels (during 1996 and 1997),¹⁵¹ whereas the prevalence ratio was 62:1 in our patients. These observations, although limited by the nature of the study, suggest a potential role of hypothyroidism in favoring Demodex proliferation, perhaps induced by associated decreased humoral¹⁵² and cellular¹⁵³ immune responses.¹⁵⁴ Interestingly, in mice, T-cell immunosuppression related to hypothyroidism was not improved by thyroid hormone therapy alone but required additional zinc supplementation.¹⁵⁵ The association between hypothyroidism and demodicosis is well-known in veterinary medicine,^{156–158} and a higher risk of thyroid cancer has been observed in women with rosacea.¹⁵⁹

Only one subject was pregnant, but 20 reported the onset or worsening of their demodicosis/PPR during their pregnancy, suggesting that pregnancy-related factors, for example the associated relative immunosuppression, may favor Demodex proliferation, although Aydingöz *et al.* reported no significant difference in Dds in pregnant and non-pregnant women.¹⁶⁰

Thus, although marked immunodepression was rarely encountered (most of our patients being apparently immunocompetent), more subtle variations in immunity seem to play a role, as suggested by the reported links to pregnancy in 20 subjects, the high prevalence of hypothyroidism, and the increasing Dd with age in the current study, in addition to the likely immunosuppressive action of VEGF^{21,62,161} associated with ETR.^{99,162}

4. Medication

Among the recent treatments used for the skin condition, only two seemed to be associated with relatively lower Dds: topical acaricidal treatment and the “anti-mycotic+corticoid” combination. Subjects recently exposed to any cortisone (topical or systemic) had lower Dds than those not exposed but Dds were similar whether or not subjects had recently been exposed to anti-mycotics (topical or systemic), suggesting that cortisone may reduce Dds when they are high, perhaps because of an antiproliferative effect on sebaceous cells.^{9,163} This is in accordance with a study by Zhao *et al.*, in which lower Dds were reported in subjects with steroid-induced rosacea than in those with other types of rosacea.¹⁰⁷ Dds also tended to be lower in our patients with steroid-induced rosacea, although the small number of such subjects in our cohort does not allow us to draw firm conclusions.

By contrast with the findings of Zeytun,²³ our subjects taking medication, although older than those who were not, did not have higher Dds.

5. Bacterial infection

S. epidermidis was identified fairly frequently, compatible with other studies showing its frequent detection in patients with rosacea (from 28%¹⁶⁴ to 60%¹⁶⁵ of subjects) and supports its probable, occasional interaction with the mite.^{18,25,164,165} Indeed, via its lipoteichoic acid (which exerts an anti-inflammatory action on keratinocytes), it may favor its own proliferation but also that of the Demodex mite.¹⁶⁶ On the other hand, the abrasive action of the Demodex mite may favor contact of the lipoteichoic acid with the dermis, enhancing the proinflammatory action of lipoteichoic acid on immune cells that normally exist in a sterile environment.^{18,166}

Two subjects with deep folliculitis had no detectable pathogenic bacteria suggesting that Demodex itself may also induce these symptoms, which could then be considered as a variant of a demodectic isolated inflammatory papule.¹⁶⁷

6. Familial cases

Genetic factors are well-known to influence the risk of rosacea,^{168–170} and the STAT 1 gain-of-function mutation is associated with familial rosacea¹⁷¹ and demodicosis.⁴⁸ In our study, most of the pairs of subjects had a genetic link suggesting that genetic background is more important than just close contact with a subject with high Dd. Nevertheless, the fact that individuals with no genetic link but from the same household were also affected suggests that frequent contact with a person with high Dd may lead to transfer of numerous mites, indicating possible contagion.

Limitations, conclusions and perspectives

Our study has several limitations including its retrospective nature, the non-systematic inclusion of subjects with healthy skin or with other facial dermatosis, the relatively small number of subjects with healthy facial skin, and the lack of data on other health problems in our Demodex- subjects and on severity and treatment of hypothyroidism in our Demodex+ subjects.

Nevertheless, our results suggest a possible link with hypothyroidism and that close interactions may exist between the Demodex mite, sebaceous gland size and function, and subtle variations in immunity (Fig. 5)

The potential influence of hypothyroidism, pregnancy, corticosteroid administration, bacterial interactions, contagiousity and genetic background on Demodex proliferation should be further investigated.

ACKNOWLEDGEMENTS

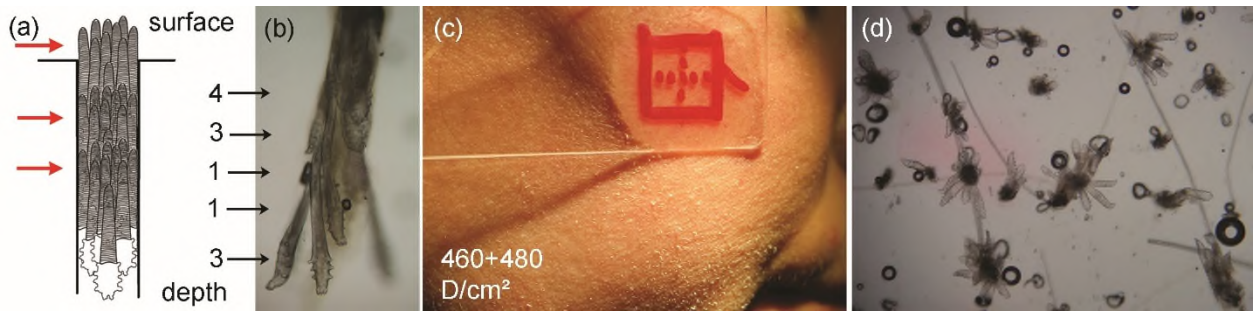
We thank M. Parmentier, V. del Marmol and C. Verhoeven, for their constructive remarks, and K. Pickett for editorial assistance. The patients in this manuscript have given written informed consent to publication of their case details.

Funding sources: None

Conflicts of interest:

Authors declare no Conflict of Interests for this article

Figure 1. Demodex folliculorum dispersed along the follicles is collected by consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs).



(a): Schematic representation of numerous *Demodex* mites, agglutinated at different levels (red arrows) inside the follicle.

(b): Microscopic view (×100) of 12 *D. folliculorum* agglutinated at different levels of the follicle on a standardized skin surface biopsy (SSSB) (numbers next to the arrows indicate the number of mites at each level): this picture is relatively rarely observed because usually the follicle content breaks and the different levels are kept as stumps on the consecutive SSSBs.

(c): Pityriasis folliculorum on the right cheek of a 41-year-old woman, with the lamina of the SSSB. The opisthosomas of the most superficial mites are visible as thin, white follicular scales at the base of the hair, giving a frosted appearance and a rough texture, often felt to be dry skin by the patient. Two consecutive SSSBs performed at the same place give two *Demodex* densities, SSSB1 (superficial) and SSSB2 (deep), which are indicated on the figure.

(d): Microscopic view (×40) of numerous *D. folliculorum* (n=73) as they usually appear on the SSSB: 1 level of *Demodex* is observed in each follicle, with 1–9 D/follicle.

This Figure is reproduced with permission from “Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate *Demodex* density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. Acta Derm Venereol (Stockh) 2017; 97(2): 242–248”.

Figure 2. Proportion of subjects in Demodex- and Demodex+ groups according to age

The known increase in *Demodex* density with age^{4,9,22–33} may explain why our *Demodex*- (gray columns) were generally younger than our *Demodex*+ (orange columns) subjects. Indeed, many older subjects attending our practice with apparently healthy skin were, under careful examination, found to have telangiectasia and/or follicular scales suggesting demodicosis. This suggests that in most elderly subjects, the skin is probably not healthy.

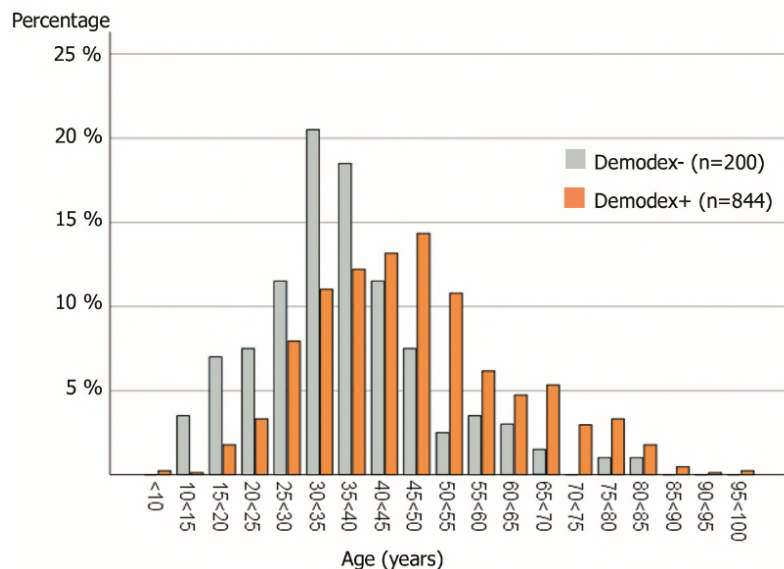
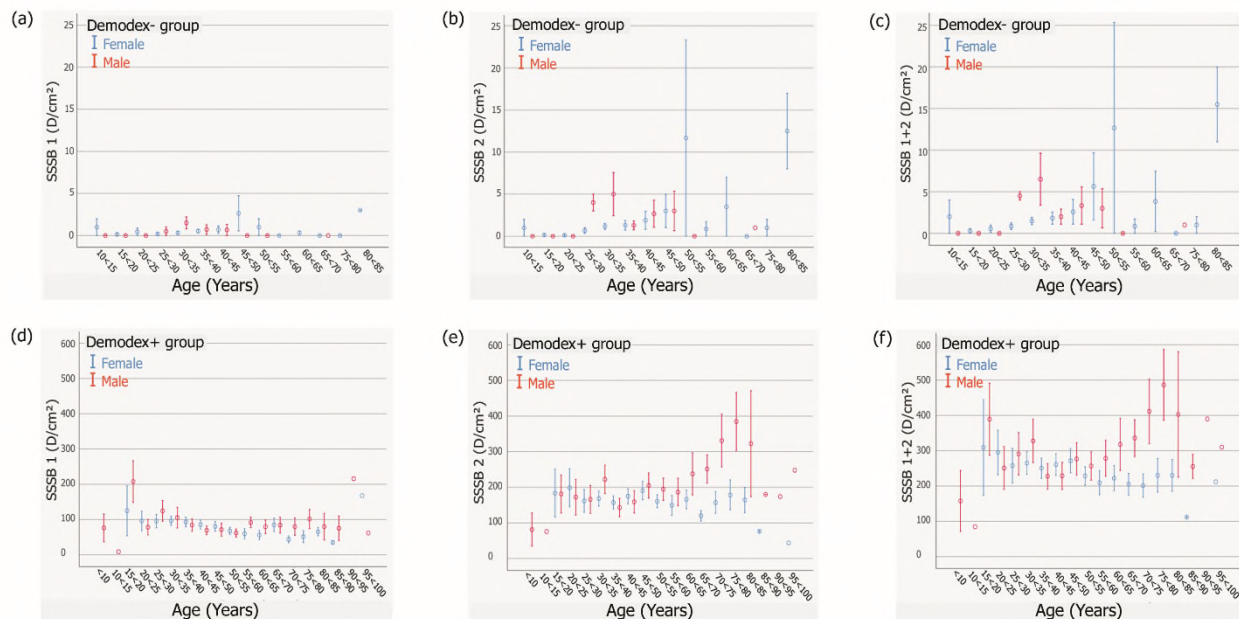


Figure 3. Variation in Demodex densities (Dds) with age in men and women in Demodex- (panels a, b and c) and Demodex+ (panels d, e and f) groups.



(a, b, c): Among Demodex- subjects (n=200), SSSB2 and SSSB1+2 increase with age in women (p=0.002 and p=0.006 respectively). In older women there was considerable variation in the measured densities: some subjects diagnosed clinically as “healthy” or as “other facial dermatoses” nevertheless had high Dd values. The higher SSSB2 values in subjects with a normal SSSB1, reflects Demodex proliferation deeper in the follicles: this may help explain why the proliferation was not clinically visible. The increase in Dd with age observed among women was not observed among men, but we only had one male Demodex- subject older than 55 years.

(d, e, f): Among Demodex+ subjects (n=844), SSSB1 decreases with age in women (p=0.004) and SSSB2 increases with age in men (p=0.001). SSSB2 and SSSB1+2 were higher in men than in women, particularly in older subjects.

Figure 4. Rosacea and demodicosis: Clinical cases

(a) and (b): a 52-year-old woman with rosacea with papulopustules (PPR) who spontaneously told us that the PPR began after her first pregnancy 31 years previously. The follicular scales and pustules are clearly visible.

(c): 73-year-old man with steroid-induced rosacea secondary to topical fluticasone-17-propionate 0.5/1000 used for 2-3 months for PPR persisting for 12 years.

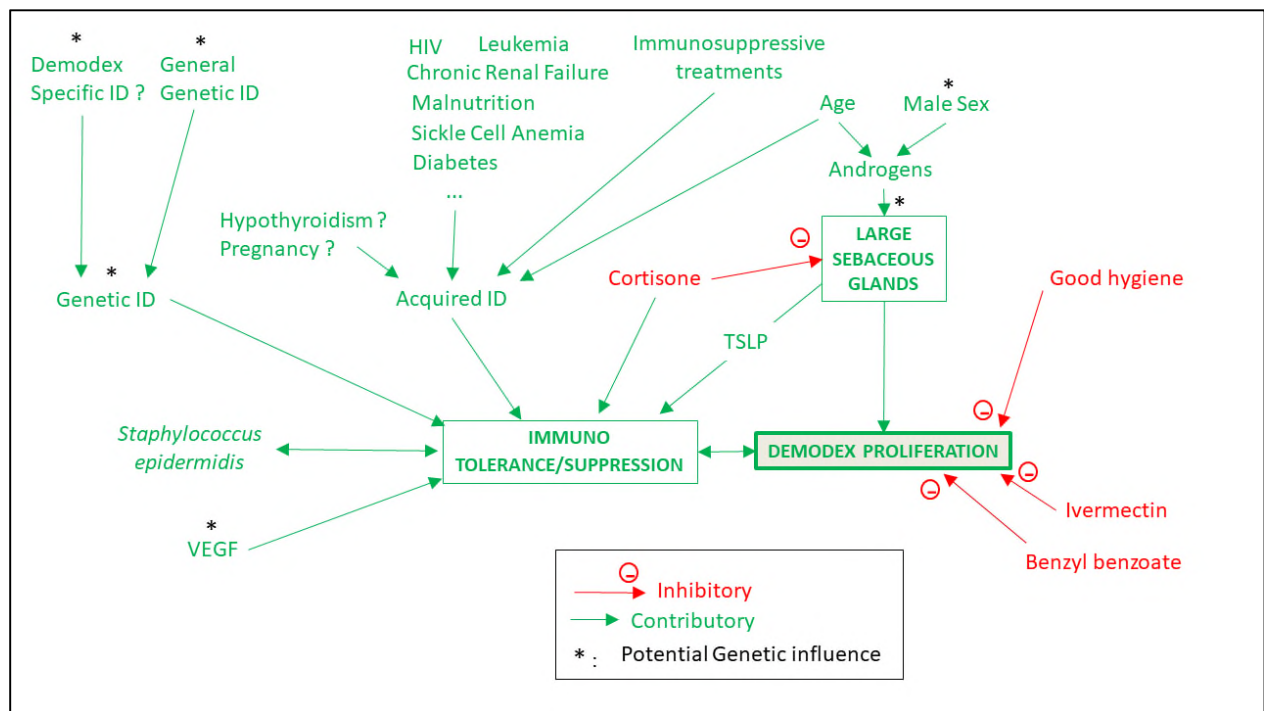
(d): Deep folliculitis observed for 1 week on the cheek of a 43-year-old woman, without fever. Clinical examination revealed pityriasis folliculorum. A bacterial smear was negative.

(e) and (f): A 48-year-old woman presented with rosacea with papulopustules (PPR) present for 5 years (e); 3 months after her first consultation, her 18-year-old daughter consulted for a less severe PPR present for 2 years with associated acne and seborrheic dermatitis (f). SSSB1 +SSSB2 values are indicated on the figures.

These five patients were included in the study and provided written consent for publication.



Figure 5. Hypothesis assembling some of the main factors that may influence Demodex proliferation: this highlights the close interactions existing between Demodex mite, sebaceous gland size and function, and immunity.



Age and sex influence Demodex proliferation likely via the production of androgens and their effect on sebaceous glands, where the mites live. Immune defects (ID) of various origins seem to be another major factor favoring Demodex proliferation: marked immunodepression (rare, e.g., HIV [human immunodeficiency virus]),^{25,34–37,37–51} and more frequently more subtle IDs, e.g., thymic stromal lymphopoietin (TSLP, increased in sebaceous gland rich areas),¹¹² glucocorticoids^{172,173} (of which abnormal endogenous synthesis is encountered in rosacea),¹⁷⁴ vascular endothelial growth (VEGF, which is increased in rosacea^{99,162} and may induce T-cell exhaustion as in tumor pathology),^{62,161} *Staphylococcus epidermidis*,^{18,166} and, potentially, pregnancy and hypothyroidism,...

Corticosteroids may favor proliferation when Demodex densities (Dds) are low, via an immunosuppressive effect,^{11,73,107,140,141} and could limit its excessive proliferation when Dds are high, by an atrophic action on the pilosebaceous follicles.^{9,163} Good facial hygiene may also potentially reduce mite proliferation.

Genetic influence may play a role at different levels (black asterisks), including as a potential specific ID limited to the defense against the mite.¹²⁹

Finally, Demodex mites themselves likely also control the immune system of the host for their own benefit.^{16–21}

Table 1. Demodex densities (Dds) according to different variables

	n	%	SSSB 1		p	SSSB2		p	SSSB1+2		p
			Mean ± SEM	Min - Max		Mean ± SEM	Min - Max		Mean ± SEM	Min - Max	
DEMODEX- GROUP^a											
Women	150	75	1 ± 0	0 - 23	0.775	2 ± 0	0 - 35	0.712	2 ± 0	0 - 45	0.853
Men	50	25	1 ± 0	0 - 6		2 ± 1	0 - 27		2 ± 1	0 - 32	
All	200	100	1 ± 0	0 - 23	-	2 ± 0	0 - 35	-	2 ± 0	0 - 45	-
DEMODEX+ GROUP^b											
Women	562	67	82 ± 5	0 - 756	0.457	167 ± 8	0 - 1256	0.010	249 ± 10	0 - 1456	0.024
Men	282	33	88 ± 6	0 - 636		204 ± 12	0 - 1280		292 ± 16	11 - 1464	
All	844	100	84 ± 4	0 - 756	-	180 ± 7	0 - 1280	-	264 ± 9	0 - 1464	-
Biopsy site											
Cheek ^c	710	84.1	86 ± 4	0 - 756	0.302	188 ± 7	0 - 1280	0.021	274 ± 10	0 - 1464	0.025
Chin	62	7.3	74 ± 13	0 - 408		132 ± 22	1 - 860		206 ± 31	8 - 1080	
Forehead	37	4.4	86 ± 18	0 - 520		160 ± 31	2 - 1020		246 ± 40	13 - 1060	
Temple	19	2.3	79 ± 15	1 - 224		135 ± 28	11 - 376		214 ± 35	21 - 488	
Nose ^d	9	1.1	8 ± 3	0 - 25		27 ± 9	3 - 82		34 ± 12	5 - 107	
Other ^e	7	0.8	53 ± 18	7 - 149	141 ± 58	0 - 384	193 ± 71	7 - 533			
Steroid-induced rosacea											
Typical PPR ^f	5		42 ± 37	0 - 188	0.371	157 ± 88	0 - 440	0.579	200 ± 108	0 - 476	0.452
Other	215		91 ± 8	0 - 756		208 ± 14	1 - 1280		298 ± 19	5 - 1464	
Three of the topical treatments among subjects with recent treatment (n=209):											
Acaricidal	28	13.4	69 ± 13		0.405	118 ± 24		0.021	186 ± 34		0.037
Other	181	86.6	86 ± 8			185 ± 15			271 ± 21		
Cortisone+antimycotic	10	4.8	68 ± 13		0.292	67 ± 21		<0.001	135 ± 24		<0.001
Other	199	95.2	85 ± 8			181 ± 14			266 ± 19		
Cortisone alone	54	25.8	66 ± 12		0.147	144 ± 22		0.172	211 ± 31		0.122
Other	155	74.2	90 ± 9			187 ± 17			276 ± 23		
Exposed to topical or systemic cortisone^g											
Yes	87	10.3	65 ± 9		0.026	144 ± 18		0.061	209 ± 25		0.036
No	757	89.7	86 ± 4			184 ± 7			270 ± 10		
Contraceptive pill (among women)											
Contraceptive pill alone	139	16.5	94 ± 10		0.332	184 ± 16		0.574	278 ± 23		0.419
No medication	191	22.6	82 ± 8			172 ± 13			255 ± 18		
Medication (other than contraceptive pill)^h											
Yes	325		80 ± 6		0.432	183 ± 11		0.870	263 ± 15		0.838
No medication	360		86 ± 6			180 ± 9			267 ± 13		

^a: The Demodex- group included 20 subjects with clinically healthy facial skin and 180 with diverse facial dermatoses.¹³

^b: The Demodex+ group included 590 subjects with demodicosis and 254 with centrofacial papulopustules suggesting rosacea (215 with persistent erythema, 27 without persistent erythema, 7 granulomatous rosacea and 5 steroid-induced rosacea).¹³

^c: The 710 cheeks contained 6 nasolabial folds.

^d: Mean SSSB2 and SSSB1+2 values were lower on the nose than elsewhere: vs cheek (p<0.001 both), chin (p=0.001 and p<0.001), forehead (p=0.003 and p<0.001) and temple (p=0.022 and p=0.001).

^e: The 7 other locations were: 2 preauricular area, 2 inferior eyelids, 1 white part of the upper lip, 1 vertex, and 1 neck.

^f: Typical PPR: centro-facial papulopustules with persistent erythema.

^g: Sixty-three subjects had been recently exposed to topical cortisone (53 cortisone alone, 9 cortisone associated with antifungal, one subject with both) and 24 subjects had been recently exposed to cortisone orally or by inhalation.

^h: The medications were: anti-hypertensive drugs (n=95), thyroid drugs (n=61), anti-depressives (n=34), anxiolytics (n=31), cortisone (orally or by inhalation; n=24), gastric agents (n=21), immunosuppressives (n=4), and others or not specified (n=222).

REFERENCES

- 1 Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; **15**: 79–98.
- 2 Palopoli MF, Fergus DJ, Minot S *et al*. Global divergence of the human follicle mite *Demodex folliculorum*: Persistent associations between host ancestry and mite lineages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; **112**: 15958–15963.
- 3 Gmeiner F. *Demodex folliculorum* des Menschen und der Tiere. *Arch Derm Syphilol* 1908; **92**: 25–96.
- 4 Du Bois C. Recherche du *Demodex folliculorum hominis* dans la peau saine. *Ann Dermatol Syph* 1910; **1**: 188–190.
- 5 Fuss F. La vie parasitaire du *Demodex folliculorum hominis*. *Ann Derm Syph (Paris)* 1933; **4**: 1053–62.
- 6 Desch C, Nutting WB. *Demodex folliculorum* (Simon) and *D. brevis akbulatova* of man: redescription and reevaluation. *J Parasitol* 1972; **58**: 169–177.
- 7 Nutting WB, Green AC. Pathogenesis associated with hair follicle mites (*Demodex* spp.) in Australian Aborigines. *Br J Dermatol* 1976; **94**: 307–312.
- 8 Nutting WB, Beerman H. Demodicosis and symbiophobia: status, terminology, and treatments. *Int J Dermatol* 1983; **22**: 13–17.
- 9 Zhao Y, Guo N, Xun M, Xu J, Wang M, Wang D. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of *Demodex* infestation (Acari: Demodicidae). *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; **12**: 998–1007.
- 10 Thoemmes MS, Fergus DJ, Urban J, Trautwein M, Dunn RR. Ubiquity and Diversity of Human-Associated *Demodex* Mites. *PLoS ONE* 2014; **9**: e106265.
- 11 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- 12 Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 13 Forton FMN, De Maertelaer V. Two Consecutive Standardized Skin Surface Biopsies: An Improved Sampling Method to Evaluate *Demodex* Density as a Diagnostic Tool for Rosacea and Demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**: 242–248.
- 14 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE *et al*. Reflectance confocal microscopy vs. standardized skin surface biopsy for measuring the density of *Demodex* mites. *Skin Res Technol* 2014; **20**: 435–439.
- 15 Riechers R, Kopf AW. Cutaneous infestation with *Demodex folliculorum* in man. *J Invest Dermatol* 1969; **52**: 103–106.
- 16 Akilov O, Mumcuoglu K. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**: 440–444.
- 17 Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. *Demodex* mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018; **179**: 420–430.
- 18 Forton FMN. Papulopustular rosacea, skin immunity and *Demodex*: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**: 19–28.
- 19 Foley R, Kelly P, Gatault S, Powell F. *Demodex*: a skin resident in man and his best friend. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020. doi:10.1111/jdv.16461.
- 20 Gazi U, Gureser AS, Oztekin A *et al*. Skin-homing T-cell responses associated with *Demodex* infestation and rosacea. *Parasite Immunol* 2019; **41**: e12658.
- 21 Forton FMN. The Pathogenic Role of *Demodex* Mites in Rosacea: A Potential Therapeutic Target Already in Erythematotelangiectatic Rosacea? *Dermatol Ther (Heidelb)* 2020. doi:10.1007/s13555-020-00458-9.
- 22 Aylesworth R, Vance JC. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol* 1982; **7**: 583–589.
- 23 Zeytun E. *Demodex* (Acari: Demodicidae) infestation in the elderly and its relationship with the skin parameters such as moisture, pH, and temperature: a cross-sectional study. *Turk Geriatri Derg* 2017; **20**: 142–150.
- 24 Sędzikowska A, Osęka M, Skopiński P. The impact of age, sex, blepharitis, rosacea and rheumatoid arthritis on *Demodex* mite infection. *oms* 2018; **14**: 353–356.
- 25 Clifford CW, Fulk GW. Association of Diabetes, Lash Loss, and *Staphylococcus aureus* with Infestation of Eyelids by *Demodex folliculorum* (Acari: Demodicidae). *J Med Entomol* 1990; **27**: 467–470.
- 26 Sengbusch HG, Hauswirth JW. Prevalence of Hair Follicle Mites, *Demodex folliculorum* and *D. Brevis* (Acari: Demodicidae), in a Selected Human Population in Western New York, USA. *J Med Entomol* 1986; **23**: 384–388.
- 27 Norn MS. *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol Suppl* 1970; **108**: 7–85.
- 28 Hellerich U, Metzelder M. [Incidence of scalp involvement by *Demodex folliculorum* Simon ectoparasites in a pathologic-anatomic and forensic medicine autopsy sample]. *Arch Kriminol* 1994; **194**: 111–118.
- 29 Norn MS. *Demodex folliculorum*. Incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull* 1971; **18**: 14–17.
- 30 Roth AM. *Demodex folliculorum* in hair follicles of eyelid skin. *Ann Ophthalmol* 1979; **11**: 37–40.
- 31 Andrews JR. The prevalence of hair follicle mites in caucasian New Zealanders. *N Z Med J* 1982; **95**: 451–453.
- 32 Sędzikowska A, Osęka M, Grytner-Zięcina B. Ocular symptoms reported by patients infested with *Demodex* mites. *Acta Parasitol* 2016; **61**: 808–814.
- 33 Koo H, Kim TH, Kim KW, Wee SW, Chun YS, Kim JC. Ocular surface discomfort and *Demodex*: effect of tea tree oil eyelid scrub in *Demodex* blepharitis. *J Korean Med Sci* 2012; **27**: 1574–1579.
- 34 Dominy A, Rosen T, Tschen J. Papulonodular demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 197–201.
- 35 Sanchez-Viera M, Hernanz JM, Sampelayo T, Gurbindo MD, Lecona M, Soto-Melo J. Granulomatous rosacea in a child infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 1010–1011.
- 36 Bañuls J, Ramon D, Aniz E, Jorda E, Torres V. Papular pruritic eruption with human immunodeficiency virus infection. *Int J Dermatol* 1991; **30**: 801–803.
- 37 Ashack RJ, Frost ML, Norins AL. Papular pruritic eruption of *Demodex folliculitis* in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 306–307.
- 38 Redondo Mateo J, Soto Guzmán O, Fernández Rubio E, Domínguez Franjo F. *Demodex*-attributed rosacea-like lesions in AIDS. *Acta Derm Venereol* 1993; **73**: 437.
- 39 Patrizi A, Trestini D, D’Antuono A, Colangeli V. Demodicidosis in a child infected with acquired immunodeficiency virus. *Eur J Pediatr Dermatol* 1999; **9**: 25–8.
- 40 Jansen T, Kastner U, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea-like demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Br J Dermatol* 2001; **144**: 139–142.

- 41 Herron MD, O'Reilly MA, Vanderhooft SL. Refractory Demodex folliculitis in five children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Dermatol* 2005; **22**: 407–411.
- 42 Morrás PG, Santos SP, Imedio IL, Echeverría ML, Hermosa JMH. Rosacea-like demodicidosis in an immunocompromised child. *Pediatr Dermatol* 2003; **20**: 28–30.
- 43 Sahn EE, Sheridan DM. Demodicidosis in a child with leukemia. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 799–801.
- 44 Seyhan M, Karıncaoğlu Y, Bayram N, Aycan O, Kuku I. Density of *Demodex folliculorum* in Haematological Malignancies. *J Int Med Res* 2004; **32**: 411–415.
- 45 Barrio J, Lecona M, Hernanz JM *et al*. Rosacea-like demodicidosis in an HIV-positive child. *Dermatology (Basel)* 1996; **192**: 143–145.
- 46 Kaya OA, Akkucuk S, İlhan G, Guneri CO, Mumcuoğlu K. The Importance of Demodex Mites (Acari: Demodicidae) in Patients With Sickle Cell Anemia. *J Med Entomol* 2019; **56**: 599–602.
- 47 Kaya S, Selimoğlu MA, Kaya OA, Özgen U. Prevalence of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in childhood malnutrition and malignancy: *Demodex* in malnutrition and malignancy. *Pediatr Int* 2013; **55**: 85–89.
- 48 Molho-Pessach V, Meltser A, Kamshov A, Ramot Y, Zlotogorski A. *STAT1* gain-of-function and chronic demodicosis. *Pediatr Dermatol* 2020; **37**: 153–155.
- 49 Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu A, Harman M, Alp S, Bahceci S. Is demodex folliculorum larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; **16**: 539–541.
- 50 Gökçe C, Aycan-Kaya Ö, Yula E *et al*. The effect of blood glucose regulation on the presence of opportunistic Demodex folliculorum mites in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res* 2013; **41**: 1752–1758.
- 51 Keskin Kurt R, Aycan Kaya O, Karateke A *et al*. Increased Density of *Demodex folliculorum* Mites in Pregnancies with Gestational Diabetes. *Med Princ Pract* 2014; **23**: 369–372.
- 52 Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC *et al*. Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**: 829–832.
- 53 Forton FMN, De Maertelaer V. Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms. *Acta Derm Venereol* 2019; **99**: 47–52.
- 54 Forton F, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case-control study. *Br J Dermatol* 2019; **181**: 818–825.
- 55 Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; **32**: 1011–1016.
- 56 Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *J Am Acad Dermatol* 2015; **72**: 749–758.
- 57 Cribier B. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013; **27**: 1336–1343.
- 58 Cribier B. Pathophysiology of rosacea: redness, telangiectasia, and rosacea. *Ann Dermatol Venereol* 2011; **138**: S184–S191.
- 59 Aroni K, Tsagrani E, Lazaris AC, Patsouris E, Agapitos E. Rosacea: A Clinicopathological Approach. *Dermatology* 2004; **209**: 177–182.
- 60 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, Falay T, Inan Yuksel E, Sarikaya E. Demodex mites in acne rosacea: reflectance confocal microscopic study. *Australas J Dermatol* 2017; **58**: e26–e30.
- 61 Katz AM. Rosacea: epidemiology and pathogenesis. *J Cutan Med Surg* 1998; **2 Suppl 4**: S4–S10.
- 62 Voron T, Marcheteau E, Pernet S *et al*. Control of the immune response by pro-angiogenic factors. *Front Oncol* 2014; **4**: 70.
- 63 Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Derm Syphilol* 1930; **21**: 19–24.
- 64 Ayres S. Demodectic Eruptions (Demodicidosis) in the Human: 30 Years' Experience with 2 Commonly Unrecognized Entities: Pityriasis folliculorum (Demodex) and Acne Rosacea (Demodex Type). *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816.
- 65 Ayres S, Anderson NP. Demodex folliculorum: its role in the etiology of acne rosacea. *Arch Derm Syphilol* 1932; **25**: 89–98.
- 66 Ayres S. Rosacea and Rosacea-like Demodicidosis. *Int J Dermatol* 1987; **26**: 198–199.
- 67 Zeytun E, Karakurt Y. Prevalence and Load of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in Patients With Chronic Blepharitis in the Province of Erzincan, Turkey. *J Med Entomol* 2019; **56**: 2–9.
- 68 Roihu T, Kariniemi A-L. Demodex mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol* 1998; **25**: 550–552.
- 69 Zeytun E, Yazıcı M. Incidence and density of Demodex folliculorum and Demodex brevis (Acari: Demodicidae) in patients with acne in the province of Erzincan, Turkey. *Int J Acarol* 2019; **45**: 108–112.
- 70 Ruffi T, Mumcuoğlu Y. The Hair Follicle Mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: Biology and Medical Importance. *Dermatology* 1981; **162**: 1–11.
- 71 Erbagci Z, Özgöztaşı O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; **37**: 421–425.
- 72 Demirdağ HG, Özcan H, Gürsoy Ş, Beker Akbulut G. The effects of sebum configuration on Demodex spp. density. *Turk J Med Sci* 2016; **46**: 1415–1421.
- 73 Basta-Juzbasić A, Marinović T, Dobrić I, Bolanca-Bumber S, Sencar J. The possible role of skin surface lipid in rosacea with epithelioid granulomas. *Acta Med Croatica* 1992; **46**: 119–123.
- 74 Jarmuda S, McMahon F, Žaba R *et al*. Correlation between serum reactivity to Demodex-associated Bacillus oleronius proteins, and altered sebum levels and Demodex populations in erythematotelangiectatic rosacea patients. *J Med Microbiol* 2014; **63**: 258–262.
- 75 Ní Raghallaigh S, Bender K, Lacey N, Brennan L, Powell FC. The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea. *Br J Dermatol* 2012; **166**: 279–287.
- 76 Liu J, Sheha H, Tseng SCG. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; **10**: 505–510.
- 77 Koçak-altıntaş AG, Kocak-midillioğlu I, Gül U, Bilezikci B, İsişçağan O, Duman S. Impression Cytology and Ocular Characteristics in Ocular Rosacea. *Eur J Ophthalmol* 2003; **13**: 351–359.
- 78 Zengin N, Tol H, Gündüz K, Okudan S, Balevi S, Endoğru H. Meibomian gland dysfunction and tear film abnormalities in rosacea. *Cornea* 1995; **14**: 144–146.
- 79 Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982; **94**: 383–387.
- 80 Ayres S. Rosacea-like demodicidosis. *Calif Med* 1963; **98**: 328–330.

- 81 Ayres S, Anderson NP. Acne rosacea: response to local treatment for *Demodex folliculorum*. *JAMA* 1933; **100**: 645–647.
- 82 Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. A case report. *Arch Dermatol* 1967; **95**: 63–66.
- 83 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915–917.
- 84 Pallotta S, Cianchini G, Martelloni E *et al*. Unilateral demodicidosis. *Eur J Dermatol* 1998; **8**: 191–192.
- 85 Forton F, Germaux M-A, Brasseur T *et al*. Demodicosis and rosacea: Epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- 86 Dominey A, Tschen J, Rosen T, Batres E, Stern JK. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 81–84.
- 87 Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 1219–1225.
- 88 Post CF, Juhlin E. Demodex Folliculorum and Blepharitis. *Arch Dermatol* 1963; **88**: 298–302.
- 89 Morgan RJ, Coston TO. Demodex Blepharitis. *South Med J* 1964; **57**: 694–699.
- 90 Coston TO. Demodex folliculorum blepharitis. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1967; **65**: 361–392.
- 91 Vashisht D, Singh J, Baveja S, Tiwari R, Bhatnagar A. Unilateral Demodicidosis of Face Mimicking Hansens Disease. *Dermatol Reports* 2016; **8**: 6891.
- 92 Yamasaki K, Gallo RL. Rosacea as a Disease of Cathelicidins and Skin Innate Immunity. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 12–15.
- 93 Falay Gur T, Erdemir AV, Gurel MS, Kocycigit A, Guler EM, Erdil D. The investigation of the relationships of demodex density with inflammatory response and oxidative stress in rosacea. *Arch Dermatol Res* 2018; **310**: 759–767.
- 94 Forton FMN, De Maertelaer V. Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; **34**: 365–369.
- 95 Tsutsumi Y. Deposition of IgD, alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin on *Demodex folliculorum* and *D. brevis* infesting the pilosebaceous unit. *Pathol Int* 2004; **54**: 32–34.
- 96 Georgala S, Katoulis A, Kylafis G, Koumantaki-Mathiodaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of *Demodex folliculorum* and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 441–444.
- 97 Buddenkotte J, Steinhoff M. Recent advances in understanding and managing rosacea. *F1000Res* 2018; **7**. doi:10.12688/f1000research.16537.1.
- 98 Steinhoff M, Vocanson M, Voegel JJ, Hacini-Rachinel F, Schäfer G. Topical Ivermectin 10 mg/g and Oral Doxycycline 40 mg Modified-Release: Current Evidence on the Complementary Use of Anti-Inflammatory Rosacea Treatments. *Adv Ther* 2016; **33**: 1481–1501.
- 99 Gerber PA, Buhren BA, Steinhoff M, Homey B. Rosacea: the Cytokine and Chemokine Network. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 40–47.
- 100 Woo YR, Lim JH, Cho DH, Park HJ. Rosacea: Molecular Mechanisms and Management of a Chronic Cutaneous Inflammatory Condition. *Int J Mol Sci* 2016; **17**: 1562.
- 101 Gallo RL, Granstein RD, Kang S *et al*. Rosacea comorbidities and future research: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**: 167–170.
- 102 Wilkin J, Dahl M, Detmar M *et al*. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; **46**: 584–587.
- 103 Fenske NA, Lober CW. Structural and functional changes of normal aging skin. *J Am Acad Dermatol* 1986; **15**: 571–585.
- 104 Forton F. [Demodex and perifollicular inflammation in man: review and report of 69 biopsies]. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**: 1047–1058.
- 105 Hsu C-K, Hsu MM-L, Lee JY-Y. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**: 453–462.
- 106 Rufli T, Büchner SA. T-Cell Subsets in Acne rosacea Lesions and the Possible Role of *Demodex folliculorum*. *Dermatology* 1984; **169**: 1–5.
- 107 Zhao Y, Peng Y, Wang X *et al*. Facial dermatosis associated with Demodex: a case-control study. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; **12**: 1008–1015.
- 108 Trivison TG, Araujo AB, Kupelian V, O'Donnell AB, McKinlay JB. The relative contributions of aging, health, and lifestyle factors to serum testosterone decline in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; **92**: 549–555.
- 109 Nutting W, Firda K, Desch CJ. Topology and histopathology of hair follicle mites (demodicidae) of man. In: *Progress in Acarology*. Oxford & IBH Publishing CO.PVT.LTD.: New Delhi, Bombay, Calcutta, pp 113–121.
- 110 Bardach HG, Raff M, Poitschek C. [Nosologic position of demodicidosis in humans]. *Hautarzt* 1981; **32**: 512–518.
- 111 Desch C, Nutting W. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977; **19**: 422–62.
- 112 Dajnoki Z, Béke G, Kapitány A *et al*. Sebaceous Gland-Rich Skin Is Characterized by TSLP Expression and Distinct Immune Surveillance Which Is Disturbed in Rosacea. *J Investig Dermatol* 2017; **137**: 1114–1125.
- 113 Pagnoni A, Kligman AM, el Gammal S, Stoudemayer T. Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. *Br J Dermatol* 1994; **131**: 862–865.
- 114 Steffen C, Ackerman A. Chapt. 32. Anatomic and histologic aspects of sebaceous glands and ducts. In: *Neoplasms with sebaceous differentiation*. Lea & Febiger: Pennsylvania, 1994.
- 115 Kalinina OV, Belousova TA, Nozdrin VI. [Age peculiarities of the sebaceous glands in the temporal area of the scalp skin in men]. *Morfologija* 2013; **143**: 69–74.
- 116 Plewig G, Kligman AM. Proliferative activity of the sebaceous glands of the aged. *J Invest Dermatol* 1978; **70**: 314–317.
- 117 Pochi PE, Strauss JS, Downing DT. Age-related changes in sebaceous gland activity. *J Invest Dermatol* 1979; **73**: 108–111.
- 118 Benk Silfeler D, Keskin Kurt R, Kaya OA *et al*. Demodex folliculorum D in polycystic ovary syndrome patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; **19**: 1141–1145.
- 119 Zhao Y, Hu L, Wu L, Ma J. A meta-analysis of association between acne vulgaris and Demodex infestation. *J Zhejiang Univ Sci B* 2012; **13**: 192–202.
- 120 Powell FC. Rosacea. *N Engl J Med* 2005; **352**: 793–803.
- 121 McFalda WL, Roebuck HL. Rational management of papulopustular rosacea with concomitant facial seborrheic dermatitis: a case report. *J Clin Aesthet Dermatol* 2011; **4**: 40–42.
- 122 Tehrani S, Tizmaghz A, Shabestanipour G. The Demodex mites and their relation with seborrheic and atopic Dermatitis. *Asian Pac J Trop Med* 2014; **7**: S82–S84.

- 123 Aktaş Karabay E, Aksu Çerman A. Demodex folliculorum infestations in common facial dermatoses: acne vulgaris, rosacea, seborrheic dermatitis. *An Bras Dermatol* 2020; **95**: 187–193.
- 124 Zhao Y-E, Hu L, Ma J-X. Molecular identification of four phenotypes of human Demodex mites (Acari: Demodicidae) based on mitochondrial 16S rDNA. *Parasitol Res* 2013; **112**: 3703–3711.
- 125 Forton, Song. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of Demodex folliculorum. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**: 697–700.
- 126 Meyer M, Müller A-K, Yang J, Šulcová J, Werner S. The role of chronic inflammation in cutaneous fibrosis: fibroblast growth factor receptor deficiency in keratinocytes as an example. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 48–52.
- 127 Powell FC. Rosacea. *Rook's Textbook of Dermatology, Ninth Edition* 2016; : 1–20.
- 128 Zeytun E, Tilki E, Doğan S, Mumcuoğlu KY. The effect of skin moisture, pH, and temperature on the density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in students and staff of the Erzincan University, Turkey. *Int J Dermatol* 2017; **56**: 762–766.
- 129 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicosis and HLA class I. *Clin Exp Dermatol* 2003; **28**: 70–73.
- 130 de Jaureguiberry JP, Carsuzaa F, Pierre C, Arnoux D, Jaubert D. [Demodex folliculitis: a cause of pruritus in human immunodeficiency virus infection]. *Ann Med Interne (Paris)* 1993; **144**: 63–64.
- 131 Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-Responsive *Demodex* Infestation during Human Immunodeficiency Virus Infection. *Dermatology* 2002; **205**: 394–397.
- 132 Duvic M. Staphylococcal infections and the pruritus of AIDS-related complex. *Arch Dermatol* 1987; **123**: 1599.
- 133 Girault C, Borsa-Lebas F, Lecomte F, Humbert G. [Papulonodular eruption. Demodicidosis in acquired immunodeficiency syndrome]. *Presse Med* 1991; **20**: 177.
- 134 Sarro RA, Hong JJ, Elgart ML. An unusual demodicidosis manifestation in a patient with AIDS. *J Am Acad Dermatol* 1998; **38**: 120–121.
- 135 Ivy SP, Mackall CL, Gore L, Gress RE, Hartley AH. Demodicidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia; an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr* 1995; **127**: 751–754.
- 136 Castanet J, Monpoux F, Mariani R, Ortonne JP, Lacour JPh. Demodicidosis in an Immunodeficient Child. *Pediatr Dermatol* 1997; **14**: 219–220.
- 137 Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N, Aycan O, Taskapan H. Incidence of Demodex Folliculorum in Patients with End Stage Chronic Renal Failure. *Renal Failure* 2005; **27**: 495–499.
- 138 Antille C, Saurat J-H, Lübke J. Induction of Rosaceiform Dermatitis During Treatment of Facial Inflammatory Dermatoses With Tacrolimus Ointment. *Arch Dermatol* 2004; **140**: 457-elucidating60.
- 139 Lübke J, Stucky L, Saurat J-H. Rosaceiform Dermatitis with Follicular *Demodex* after Treatment of Facial Atopic Dermatitis with 1% Pimecrolimus Cream. *Dermatology* 2003; **207**: 205–207.
- 140 Dolenc-Voljc M, Pohar M, Lunder T. Density of Demodex folliculorum in perioral dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2005; **85**: 211–215.
- 141 Cevik C, Kaya OA, Akbay E *et al*. Investigation of demodex species frequency in patients with a persistent itchy ear canal treated with a local steroid. *J Laryngol Otol* 2014; **128**: 698–701.
- 142 Aydogan K, Alver O, Tore O, Karadogan S. Facial abscess-like conglomerates associated with Demodex mites. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2006; **20**: 1002–1004.
- 143 Patrizi A, Neri I, Chierogato C, Misciali M. Demodicidosis in immunocompetent young children: report of eight cases. *Dermatology (Basel)* 1997; **195**: 239–242.
- 144 Guerrero-González GA, Herz-Ruelas ME, Gómez-Flores M, Ocampo-Candiani J. Crusted demodicosis in an immunocompetent pediatric patient. *Case Rep Dermatol Med* 2014; **2014**: 458046.
- 145 Won JH, Ahn SK, Lee SH. Unusual manifestation of demodicidosis in a child. *Int J Dermatol* 1993; **32**: 822.
- 146 Pietrini P, Favennec L, Brasseur P. Demodex folliculorum in parakeratosis of the scalp in a child. *Parasite* 1995; **2**: 94.
- 147 Van der Heyden J, Mimilidis H, Bartholomeeusen S, Vanthomme K, Van Casteren V, Tafforeau J. Diabetes prevalentie in België: vergelijking van beschikbare data. *Vlaams Tijdschr Voor Diabetol* 2012; **2**: 6–8.
- 148 Buysschaert M, Sadikot S. Le diabète en Belgique et dans le monde : quo vadis? *Louvain med* 2016; **135**: 21–22.
- 149 Boulard C, Jonckheer P. 14. ASTHME. *Les données de l'IBGE : « Interface Santé et Environnement »* 2008; : 1–17.
- 150 Sciensano. Belgian Health Interview Survey. Module: Chronic conditions - Update 2018. https://s9xjb.wiv-isp.be/SASStoredProcess/guest?_program=/HISIA/SP/selectmod2018&module=chron (accessed 17 Oct2020).
- 151 Jonckheer P, Van Casteren V. Les nouveaux cas d'affections thyroïdiennes en médecine générale. 2004. https://www.wiv-isp.be/Epidemio/epifr/medvfr/thy_9697_f.pdf (accessed 29 May2020).
- 152 Stagi S, Azzari C, Bindi G *et al*. Undetectable serum IgA and low IgM concentration in children with congenital hypothyroidism. *Clin Immunol* 2005; **116**: 94–98.
- 153 Pillay K. Congenital hypothyroidism and immunodeficiency: evidence for an endocrine-immune interaction. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998; **11**: 757–761.
- 154 Jara EL, Muñoz-Durango N, Llanos C *et al*. Modulating the function of the immune system by thyroid hormones and thyrotropin. *Immunol Lett* 2017; **184**: 76–83.
- 155 Paulazo MA, Klecha AJ, Sterle HA *et al*. Hypothyroidism-related zinc deficiency leads to suppression of T lymphocyte activity. *Endocrine* 2019; **66**: 266–277.
- 156 Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec (1987-1988). *Can Vet J* 1990; **31**: 830–835.
- 157 Gortel K. Update on canine demodicosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; **36**: 229–241, ix.
- 158 Mueller RS, Bensignor E, Ferrer L *et al*. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. *Vet Dermatol* 2012; **23**: 86–96, e20-21.
- 159 Li W-Q, Zhang M, Danby FW, Han J, Qureshi AA. Personal history of rosacea and risk of incident cancer among women in the US. *Br J Cancer* 2015; **113**: 520–523.
- 160 Aydingoz IE, Dervent B, Guney O. Demodex folliculorum in pregnancy. *Int J Dermatol* 2000; **39**: 743–745.
- 161 Voron T, Tartour É, Taieb J, Terme M. Rôle du VEGF dans l'épuisement des lymphocytes T intratumoraux. *Med Sci (Paris)* 2015; **31**: 473–475.
- 162 Smith JR, Lanier VB, Brazier RM, Falkenhagen KM, White C, Rosenbaum JT. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in rosacea. *Br J Ophthalmol* 2007; **91**: 226–229.

- 163 Bøge-Rasmussen T, Christensen JD, Gluud B, Kristensen G, Norn MS. Demodex folliculorum hominis (Simon): incidence in a normomaterial and in patients under systemic treatment with erythromycin or glucocorticoid. *Acta Derm Venereol* 1982; **62**: 454–456.
- 164 Woo YR, Lee SH, Cho SH, Lee JD, Kim HS. Characterization and Analysis of the Skin Microbiota in Rosacea: Impact of Systemic Antibiotics. *J Clin Med* 2020; **9**: 185.
- 165 Whitfeld M, Gunasingam N, Leow LJ, Shirato K, Preda V. Staphylococcus epidermidis: A possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2011; **64**: 49–52.
- 166 Lai Y, Di Nardo A, Nakatsuji T *et al.* Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat Med* 2009; **15**: 1377–1382.
- 167 Seifert HW. [Demodex folliculorum causing solitary tuberculoid granuloma]. *Z Hautkr* 1978; **53**: 540–542.
- 168 Abram K, Silm H, Maaros H-I, Oona M. Risk factors associated with rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2010; **24**: 565–571.
- 169 Aldrich N, Gerstenblith M, Fu P *et al.* Genetic vs Environmental Factors That Correlate With Rosacea: A Cohort-Based Survey of Twins. *JAMA Dermatol* 2015; **151**: 1213–1219.
- 170 Second J, Severac F, Paix A, Cribier B. Rhinophyma is associated with alcohol intake. *J Am Acad Dermatol* 2019; **81**: 249–250.
- 171 Sáez-de-Ocariz M, Suárez-Gutiérrez M, Migaud M *et al.* Rosacea as a striking feature in family members with a STAT1 gain-of-function mutation. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; **34**: e265–e267.
- 172 van Vliet SJ, van Liempt E, Geijtenbeek TBH, van Kooyk Y. Differential regulation of C-type lectin expression on tolerogenic dendritic cell subsets. *Immunobiology* 2006; **211**: 577–585.
- 173 Sim WJ, Ahl PJ, Connolly JE. Metabolism Is Central to Tolerogenic Dendritic Cell Function. *Mediators Inflamm* 2016; **2016**: 2636701.
- 174 Hong JS, Han S, Lee JS *et al.* Abnormal Glucocorticoid Synthesis in the Lesional Skin of Erythematotelangiectatic Rosacea. *J Invest Dermatol* 2019; **139**: 2225–2228.e3.

4.2.7.2. **Commentaires concernant l'article**

Six points nous paraissent intéressants concernant les patients Demodex+ :

- La Dd est plus grande chez l'homme que chez la femme, comme dans d'autres études ;^{38,41,44,232,548}
- La tendance différente en fonction du sexe, de la variation de la Dd en fonction des groupes d'âge, tendant, avec l'âge, à augmenter chez l'homme et à diminuer chez la femme (SSSB1+2) ;
- La prévalence particulièrement élevée de l'hypothyroïdie parmi nos sujets Demodex+ ;
- Les deux influences opposées probables de la cortisone : favorisant la pullulation par son action immunosuppressive, et la limitant quand elle atteint un certain seuil, par son action atrophiante sur l'épiderme ;
- L'importance des cas familiaux, à mettre en relation avec la prédisposition familiale de la rosacée, qui vient d'être confirmée par de récentes études génétiques (§ 1.4.7.),
- L'association avec le *S. epidermidis* dans certains cas.

Bien que les patients avec profonde immunodépression restent rares dans notre étude, comme dans celle de 2005, certaines observations suggèrent

l'intervention plus fréquente de variations plus subtiles du status immunitaire sur la prolifération en parasites :

1) La confirmation de l'augmentation globale de la Dd avec l'âge.^{19,34–44} Celle-ci témoigne vraisemblablement de la baisse de l'immunité cellulaire liée à l'âge. Elle a été observée indirectement dans notre étude lors de l'inclusion des patients, car nous avons eu des difficultés à trouver des patients âgés avec une peau saine : chez les sujets âgés, la norme (l'état de la plupart des gens), ne semble plus être la peau saine,

tout comme ne l'est plus la bonne santé (sans aucune maladie). Une analyse d'un échantillon d'individus représentatif de la population, par un dermatologue sensibilisé au dépistage de la démodécie clinique et subclinique, montrerait probablement une diminution drastique de prévalence de la peau saine avec l'âge.

2) La grande prévalence des **hypothyroïdies** parmi nos patients avec haute Dd est probablement à mettre en relation avec la baisse de l'immunité cellulaire habituellement présente chez les patients hypothyroïdiens. Dépister l'hypothyroïdie chez les patients avec démodécie ou rosacée serait donc utile, et bien sûr cette association demande à être confirmée par des études spécifiques.

3) Les fréquentes déclarations spontanées des patientes à propos du début simultané ou juste après une **grossesse** témoignent vraisemblablement de la baisse de l'immunité au cours de la grossesse.

D'autres observations semblent confirmer l'influence de la taille de la glande sébacée sur la prolifération en Demodex :

1) **La variation de la Dd avec l'âge qui diffère selon le sexe.** Celle-ci témoigne vraisemblablement de l'influence des hormones mâles sur le développement des glandes sébacées, hormones qui diffèrent selon l'âge et le sexe. Dans notre étude, tout se passe comme s'il y avait un **effet de saturation** chez les femmes âgées Demodex+, comme si les trop nombreux Demodex ne parvenaient plus à proliférer au-delà d'un certain seuil, probablement suite à l'involution des glandes sébacées de l'hôte avec l'âge, plus précoce chez la femme. Ainsi, après un certain âge, la Dd diminuant chez les femmes et continuant à augmenter chez les hommes pourrait expliquer l'effet « plateau » de la densité observé à partir de 60-65 ans dans la population mixte d'autres études ;^{129,222}

2) Ce même effet de saturation semble s'observer **aussi chez les patients traités par cortisone**, probablement par un effet atrophiant sur les follicules pilosébacés.

Cependant, paradoxalement, les prélèvements faits sur le nez (où les glandes sébacées sont volumineuses) ont montré que, si la densité en Demodex pouvait y être élevée, elle y était cependant moins élevée que dans les autres localisations. Ceci pose la question d'une éventuelle **suprématie des *D brevis*** (et *D folliculorum* forme courte), favorisée par des lobules plus développés à ce niveau, ou/et par **une limitation de l'accumulation des *D folliculorum*** par d'autres éléments anatomiques (comme des canaux folliculaires potentiellement plus courts qu'ailleurs, et/ou d'une éventuelle **compétition entre le *D folliculorum* et les Demodex vivant dans la glande sébacée...** Des études anatomopathologiques seraient bienvenues pour étayer ces hypothèses.

4.2.7.3. Age et densité en Demodex

La plupart des études observent une augmentation de la prévalence du Demodex avec l'âge, témoin de son **augmentation de densité avec l'âge** (§ 1.1.3.).^{19,34-44} Notre étude la reflète indirectement car nous avons eu des difficultés à trouver des patients âgés avec la peau saine (cfr supra et Fig. 2 de l'article).

- Cependant, au sein de notre groupe Demodex+, nous n'avons pas observé cette augmentation de Dd avec l'âge ($p=0.001$ pour SSSB1 qui diminue avec l'âge, $p=0.089$ pour SSSB2 et $p=0.919$ pour SSSB1+2). Cela s'explique aisément car, dans ce groupe Demodex+, quasi tous les patients ont une très haute Dd, au vu de leur pathologie démodécique, et ce, quel que soit l'âge. Cependant, une tendance différente a été observée selon le sexe (Fig. 3) : ces tendances inverses peuvent expliquer l'absence de tendance tous sexes confondus.
- Dans notre groupe Demodex-, au contraire, ils ont pour la plupart une densité très faible, au vu de l'absence de pathologie démodécique, mais quelques sujets avec démodécies subcliniques s'étant infiltrées parmi les femmes âgées (Fig. 3 de l'article), les SSSB2 et SSSB1+2 augmentent avec l'âge parmi les femmes Demodex-.

Ce même phénomène est probablement intervenu également dans les autres études,^{19,34-44} et, de plus, il est vraisemblable que leurs auteurs aient été moins sensibilisés que nous à exclure les sujets avec démodécie discrète de leur groupe contrôle, car ils ne spécifient pas qu'ils les ont exclus (§1.5.). Comme, avec l'âge, il y a de plus en plus de patients avec démodécie (y compris discrète et subcliniques), il est normal de retrouver une augmentation de la prévalence/Dd avec l'âge dans ce cas.

4.2.7.4. Relativisation des résultats

Il est important de garder à l'esprit que toutes les analyses effectuées au sein du groupe Demodex+ (avec haute Dd) reflètent probablement plus un effet **modulateur sur une densité en Demodex excessive** qu'un effet favorisant ou défavorisant simple et direct au départ d'une densité normale.

De plus, **il ne s'agit que d'associations, et donc aucunement de preuve de relation causale**. Ceci est particulièrement mis en évidence lorsqu'on explore l'usage des cosmétiques.

Nous avons constaté que l'usage de savon et cosmétique était identique dans les deux groupes (Demodex+ et Demodex-) et que l'usage de cosmétiques était associé à une plus faible Dd parmi les sujets Demodex+ (Tableau 17).

Tableau 17. Densités en Demodex associées à l'usage régulier de savon et de cosmétiques sur le visage dans nos groupes Demodex+ et Demodex-

Group	Subjects		Use	Subjects			SSSB1		SSSB2		SSSB1+2	
	All	known data		n	%	p ^a	mean ± SEM	p ^b	mean ± SEM	p ^b	mean ± SEM	p ^b
Demodex+	844	833	Soap	349	41.9	0.948	85.4 ± 5.9	0.710	178.8 ± 10.1	0.771	264.2 ± 14.0	0.944
			no soap	484	58.1		82.7 ± 4.7		182.8 ± 8.6		265.5 ± 11.7	
Demodex-	200	149	Soap	62	41.6	0.087	77.5 ± 4.4	0.019	162.5 ± 7.5	<0.001	240.1 ± 10.4	0.001
			no soap	87	58.4							
Demodex+	844	827	cosmetics	544	65.8	0.087	77.5 ± 4.4	0.019	162.5 ± 7.5	<0.001	240.1 ± 10.4	0.001
			no cosmetic	283	34.2							
Demodex-	200	148	cosmetics	108	73.0	0.087	77.5 ± 4.4	0.019	162.5 ± 7.5	<0.001	240.1 ± 10.4	0.001
			no cosmetic	40	27.0							

p^a: comparison of prevalences of soap and cosmetic use in the Demodex+ and Demodex- groups; Pearson exact chi-square test

p^b: Student t test

Cette association surprenante des cosmétiques avec une Dd plus basse est extrêmement difficile à interpréter notamment vu que :

- Certains d'entre eux pourraient bien avoir une action acaricide directe ou indirecte, via une action sur le microbiote par exemple (en éliminant les *Staphylococcus epidermidis*, ils pourraient diminuer la tolérance vis-à-vis du Demodex). Cependant, tous les cosmétiques ont été considérés indistinctement, mélangés dans le même groupe ; et donc si certains avaient une efficacité réelle, elle devrait être noyée parmi les autres cosmétiques inefficaces.
- Une autre possibilité est que les sujets qui utilisent des cosmétiques soient plus soucieux de l'état de leur peau et ont peut-être une **meilleure hygiène**, (contrairement à ceux qui utilisaient des cosmétiques en couche épaisse au début du siècle dernier, pour cacher leur dermatose) ;
- Enfin, les cosmétiques sont probablement plus utilisés par les **femmes** que par les hommes, et par les sujets utilisant du **savon** ou des **traitements** (déséchantants (isotrétinoïne, skinoren, ...) ou autres), et donc l'association observée pourrait aussi être liée plutôt à ces facteurs-là qu'aux cosmétiques eux-mêmes.

L'association simple observée au départ est ainsi le reflet de l'implication d'une **multitude de facteurs confondants potentiels**. Afin de mieux investiguer le poids des différents facteurs potentiellement influents, nous avons complété ces analyses bivariées par des analyses multivariées (régressions linéaires multiples). Nous avons sélectionné un groupe homogène de patients Demodex+ : ceux qui avaient reçu uniquement un des traitements antérieurs récents potentiellement influents avant le J0 (acaricide, cortisone, métronidazole, association de corticoïde et d'antimycotique, rétinoïde topique, rétinoïde per os, skinoren, laser) et qui n'avaient pas reçu d'immunosuppresseur ou de cortisone par voie générale. Nous avons ainsi sélectionné un sous-groupe de 201 patients qui n'avaient aucune donnée manquante pour toutes ces variables, et avons étudié l'influence potentielle relative

de ces différents traitements antérieurs récents, du sexe, de l'âge, de l'usage de savon et de cosmétiques dans ce sous-groupe.

Les résultats du modèle statistique ne montrent qu'une seule association significative : entre les valeurs plus basses de SSSB1+2 et l'usage récent de cortisone topique ($p=0.043$).

Ces résultats obtenus par analyses multivariées dans ce sous-groupe homogène sélectionné apportent des renseignements différents de ceux observés en analyse bi-variée, notamment sur l'ensemble du groupe, tant au niveau des traitements antérieurs que des cosmétiques :

- Les analyses bivariées, constatant ou non l'existence d'une association entre 2 variables, ont montré une association entre une Dd plus basse et le **sexe féminin**, l'usage récent de **cosmétiques**, d'**acaricides**, d'associations **anti-mycotiques/cortisone**.
- Les analyses multivariées, mettant en évidence le poids relatif des différentes variables introduites dans le modèle, ont constaté un poids plus grand des **corticoides topiques** par rapport aux autres variables, dans un groupe plus homogène mais plus restreint.

Ainsi, notre étude pose de nouvelles questions, et souligne l'intérêt d'investiguer ces influences sur la prolifération en Demodex de façon prospective et spécifique (avec randomisation dans 2 groupes, l'un avec et l'autre sans le facteur étudié) : le savon, les différents cosmétiques (séparés), la corticothérapie, l'hypothyroïdie (et de l'effet d'un supplément en zinc), la taille de la glande sébacée, la grossesse.

Une influence que nous avons pu étudier plus profondément, bien que sans groupe contrôle, est celle du traitement acaricide donné à nos patients (§ 4.2.8.).

4.2.8. Effets du traitement acaricide

Au cours de la période d'étude (2002-2016), suite aux remarques des patients quant à leur tolérance, ou à l'efficacité du traitement, ces traitements ont été progressivement modifiés (concentration, fréquence d'application, excipients) pour essayer d'améliorer l'observance et l'efficacité, donnant lieu à trois groupes thérapeutiques (§ 4.1.2.3.F.), qui ont été comparés entre eux quant à l'effet sur la densité en Demodex, les symptômes et la compliance.

Deux analyses ont été effectuées : une première concerne les deux premières consultations, une seconde le premier épisode en entier.

4.2.8.1. Les deux premières mesures⁵⁶²

SHORT REPORT

Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms

F.M.N. Forton,^{1,*} V. De Maertelaer²

¹Dermatology Clinic, Brussels, Belgium

²Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie humaine et moléculaire (IRIBHM) & Service de Biostatistique et Informatique médicale (SBIM), Université Libre de Bruxelles (ULB), Brussels, Belgium

*Correspondence: F.M.N. Forton. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Abstract

Background Patients with rosacea or demodicosis have high facial skin Demodex densities (Dds). Topical ivermectin, benzyl benzoate (BB) and crotamiton have been shown to decrease Dds *in vivo*, but there are few data on the clinical and acaricidal effects of BB among patients with rosacea.

Objective To evaluate the impact of topical BB (+crotamiton) treatment on Dds and clinical symptoms of rosacea and demodicosis, and compare three BB treatment regimens.

Methods In this retrospective observational study, 394 patients (117 with rosacea, 277 with demodicosis) were included. Three BB (+crotamiton) treatment regimens were compared: 12% once daily, 12% twice daily and 20% once daily. Dds were measured using two consecutive standardized skin surface biopsies [superficial (SSSB1) and deep (SSSB2)] before treatment and at the first follow-up. Symptoms were evaluated using investigator global assessment. Treatment was considered effective if the Dd had normalized (SSSB1 \leq 5 D/cm² AND SSSB2 \leq 10 D/cm²) or symptoms had cleared and curative if the Dd had normalized and symptoms had cleared.

Results At an average of 2.7 months after treatment start, the total Dd (SSSB1 + 2) had decreased by $72.4 \pm 2.6\%$ from the initial value across the whole cohort. Dds had normalized in 139 patients (35%), and symptoms had cleared in 122 (31%). Treatment was effective in 183 (46%) patients and curative in 78 (20%). Compliance was good: 77% of patients correctly followed treatment instructions. Results were similar in patients with rosacea and those with demodicosis. The 12% once-daily regimen was less effective than the other doses and had poorer compliance than the 12% twice-daily regimen.

Conclusion Topical treatment with BB (+crotamiton) may be an effective treatment for rosacea and demodicosis, indirectly supporting a key role of the mite in the pathophysiology of rosacea. The two higher dose regimens were more effective than the lower dose.

Received: 8 April 2019; Accepted: 21 August 2019

Conflicts of interest

Dr Forton occasionally works as a consultant for Galderma. Prof De Maertelaer has no conflicts of interest to declare. Contents of the manuscript have not been previously published and are not currently submitted elsewhere.

Funding sources

This article has no funding sources.

Introduction

Rosacea and demodicosis are common dermatoses affecting about 10% of the population.^{1,2} Although still controversial,^{3–5} evidence supporting a role of Demodex in papulopustular rosacea (PPR) is accumulating,^{6–10} and recent guidelines for the treatment of rosacea include use of ivermectin, an acaricidal drug, as a first-line topical treatment for PPR.^{11–13}

In 1998, we demonstrated an acaricidal action on *Demodex folliculorum* of benzyl benzoate (BB) and, to a lesser extent of crotamiton,¹⁴ treatments that have been poorly studied.^{5,15} In the present study, we analysed the impact of three topical BB (with crotamiton) treatment regimens on the evolution of Demodex densities (Dds) and clinical symptoms in patients with demodicosis and rosacea.

Methods

This study is a retrospective subanalysis of some patients included in an earlier study⁹ and was approved by the Erasmus Hospital Ethics committee. Patients with rosacea with centrofacial papulopustules or with demodicosis were included if they had no associated facial dermatosis, had received BB but no anti-inflammatory treatment (e.g. tetracyclines or metronidazole) and had attended follow-up. Only the first follow-up visit, generally scheduled for two months after the initial consult, was analysed.

At the initial consultation and at follow-up, each patient had two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs) performed, allowing measurement of two Dds (D/cm^2) [superficial (SSSB1) and deep (SSSB2)].⁹ The SSSBs were performed at the same site at initial consultation and follow-up.

During the study period (2002–2010), dosages and frequency of application of the BB cream and excipients were altered to improve compliance and efficacy, giving three groups:

- 1 BB12% 1×/d: a cream composed of crotamiton 10% applied in the morning and another composed of BB 12% and crotamiton 10% in the evening. Different excipients were used including carbopol gel, cetylic cream, cosmetic moisturizer and Therapeutic Magistral Form (TMF) cetomacrogol cream.
- 2 BB12% 2×/d: BB 12% and crotamiton 10% twice a day in TMF cetomacrogol cream.
- 3 BB20% 1×/d: moisturizing cream in the morning and 20–24% BB with 10% crotamiton in TMF cetomacrogol cream in the evening.

Patients were instructed to wash the face twice daily using a mild soap and a flannel and to apply the topical cream over the face and neck, avoiding the eye area and the lips.

The effects of the different treatments were evaluated by the change in Dd from initial consultation and the presence or absence of symptoms, assessed using investigator global assessment (IGA). Treatment was considered effective if the Dd had normalized ($SSSB1 \leq 5 D/cm^2$ AND $SSSB2 \leq 10 D/cm^2$)⁹ OR symptoms had cleared and curative if the Dd had normalized AND symptoms had cleared. Compliance was considered good if the patient stated he/she had correctly followed treatment instructions.

Differences in continuous variables were compared between groups using an analysis of covariance (ANCOVA), including age and sex as covariates, followed by Sidak tests for multiple comparisons if required. In the absence of age and sex effects, continuous variables were compared using classical Student *t*-tests or Welch's *t*-tests in case of variance inequality, or with analyses of variance (ANOVA) followed by Sidak or Dunnett T3 multiple comparison tests when required according to the results of the Levene test for homoscedasticity. Differences in qualitative variables were compared using Pearson's exact chi-square tests.

Results

A total of 394 patients were included in the analysis (Table 1): 277 with demodicosis and 117 with rosacea with papulopustules (105 with and 11 without persistent erythema and 1 steroid-induced rosacea). Mean age was 47.5 ± 0.8 years (range: 7.4–90.5); 278 were women. The cheek was the most frequent biopsy site (336/394). In the 12% 1×/d group, the excipients were carbopol gel, cetylic cream, TMF cetomacrogol cream and cosmetic cream for 18, 20, 38 and 119 patients, respectively. The mean time between the initial consultation and the follow-up was 2.7 ± 0.2 months (range: 0.2–65.2).

There were no statistically significant differences between the three treatment groups in terms of diagnosis, mean age, biopsy site, duration between visits or initial Dds. There were more women in the BB12% 1×/d group than in the BB20% 1×/d group (Table 1), but the statistical method used for comparisons corrected for these differences. The mean follow-up Dds were significantly lower than the initial values for the whole cohort (SSSB1: 25 ± 2 vs $94 \pm 6 D/cm^2$; SSSB2: 37 ± 3 vs $208 \pm 10 D/cm^2$; both $P < 0.001$) and within each treatment group (Table 1, Fig. 1), with no significant differences according to sex or clinical diagnosis. In the whole cohort, the total Dd (SSSB1 + 2) decreased by $72.4 \pm 2.6\%$ from the initial value (Table 1).

At follow-up, Dds had normalized in 35% of patients and symptoms had cleared in 31% (Table 1), with no significant differences according to clinical diagnosis. Treatment was effective in 46% of patients and curative in 20% (Table 1, Figs 2 and 3). Symptom clearance was more frequently observed in men (34%) than in women (20%) ($P = 0.041$). Among the 44 patients in whom symptoms had cleared but Dd had not normalized, the Dd had decreased significantly [SSSB1: from 109 ± 21 to $20 \pm 3 D/cm^2$ ($P < 0.001$); SSSB2: from 259 ± 42 to $21 \pm 2 D/cm^2$ ($P < 0.001$)].

Treatment was less effective in the BB12% 1×/d group, with fewer patients having cleared symptoms than in the other two treatment groups and fewer patients having normalized Dds than in the BB12% 2×/d group (Table 1).

Compliance was good in 77% of the patients (Table 1). There was 65% concordance between compliance and effectiveness of treatment.

Discussion

Topical treatment with BB (with crotamiton) was effective at reducing Dds and clearing clinical symptoms, in rosacea and demodicosis. When comparing the three treatment regimens, the 12% 1×/d regimen was clearly less effective than the two other regimens. The differences between the 12% 2×/d and 20% 1×/d regimens were less obvious, the only statistically significant difference being in the percentage of patients who only had cleared symptoms (without normalization of their Dd). The lack

Table 1 Demographic data and effects of the acaricidal treatment in the whole cohort and in the three treatment groups: Demodex densities, clinical symptoms and compliance

		All	Therapeutic groups		
			BB12% 1x/d	BB12% 2x/d	BB20% 1x/d
Number of patients		394	195	171	28
Age : years	Mean±SEM	47.5±0.8	48.1±1.0	47.1±1.2	45.1±3.1
Number of women (%)		278 (71)	150 (77)	113 (66)	15 (54)
SSSB1 : number of Demodex/cm ²	Initial mean±SEM	94±6	88±8	103±9	78±19
	Follow-up mean±SEM	25±2	28±3	23±4	22±6
	Decrease mean±SEM	69±5	61±7	80±9	56±19
SSSB2 : number of Demodex/cm ²	Initial mean±SEM	208±10	188±13	221±16	259±49
	Follow-up mean±SEM	37±3	45±5	28±4	40±15
	Decrease mean±SEM	170±10	143±12	193±15	219±50
SSSB1+2	% decrease from initial	72.4±2.6	63.1±4.8	82.6±1.9	74.5±6.3
% normalized Dd (n)		35 (139)	24 (47)	49 (83)	32 (9)
% cleared symptoms (n)		31 (122)	20 (38)	40 (69)	54 (15)
% ONLY normalized Dd (n)		15 (61)	13 (26)	19 (32)	11 (3)
% ONLY cleared symptoms (n)		11 (44)	9 (17)	11 (18)	32 (9)
% cured (n)		20 (78)	11 (21)	30 (51)	21 (6)
% effective Treatment (n)		46 (183)	33 (64)	59 (101)	64 (18)
% good compliance (n)		77 (304)	71 (138)	85 (146)	71 (20)

The circles indicate the subgroups being compared; green lines show comparisons across three groups and red lines comparisons between two groups. Vertical comparisons: follow-up versus initial densities.

Only statistically significant *P* values are shown.

The changes in SSSB1 and 2 showed similar patterns. The decrease in SSSB2 was different across the 3 groups, although the differences were NS when the subgroups were compared two by two. This finding may be the result of a lack of power of the test because of the large variability in the initial SSSB2 values in the BB20% 1x/d group and the small number of patients in this group. Indeed, when the two higher dose treatments (showing similar decreases) were combined, the mean decrease in SSSB2 was significantly greater than in the BB12% 1x/d group.

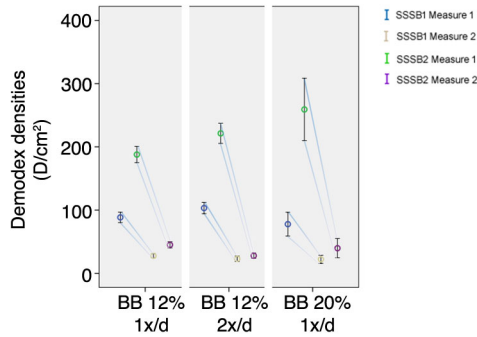


Figure 1 Initial and follow-up Demodex densities (SSSB1 and SSSB2) in the three treatment groups. There was no statistically significant difference among the groups in initial SSSB1 or SSSB2, in follow-up SSSB1 or in the decrease in SSSB1. The follow-up SSSB2 was lower in the BB12% 2×/d group than in the BB12% 1×/d group ($P = 0.027$). SSSB: standardized skin surface biopsy; BB: benzyl benzoate.

of significant differences for the other results may be because of the small number of patients in the BB20% 1×/d group, thus limiting the statistical power.

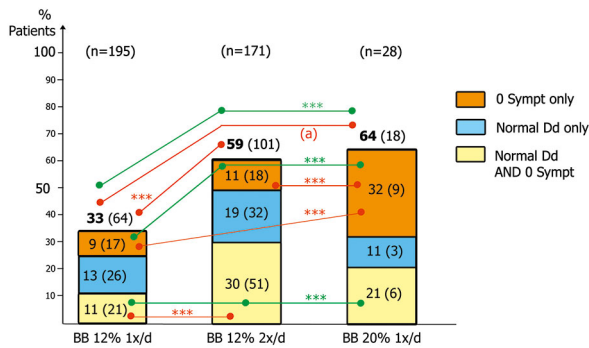


Figure 2 Percentages of patients (number of patients in brackets) with effective treatment [normalization of the Demodex density (Dd) OR symptoms cleared] and cure (normalization of the Dd AND symptoms cleared). When comparing the three treatment regimens, the once a day application of 12% BB was less effective than the twice a day application and than the 20% once-daily regimen. The 20% BB treatment appeared a little more effective than the 12% twice daily, but the only statistically significant difference was for the percentage of patients who only had cleared symptoms (without normalization of the Dd). 0 Sympt only: patients with symptoms cleared but with Dd not normalized. Normal Dd only: patients with normalized Dd but still with symptoms. Normal Dd AND 0 Sympt: patients with normalized Dd and with symptoms cleared (i.e. cured). The circles indicate the subgroups concerned by the comparisons; green lines show comparisons across three groups and red lines comparisons between two groups. ***: $P < 0.001$; (a): $P = 0.003$. Only statistically significant differences are shown.

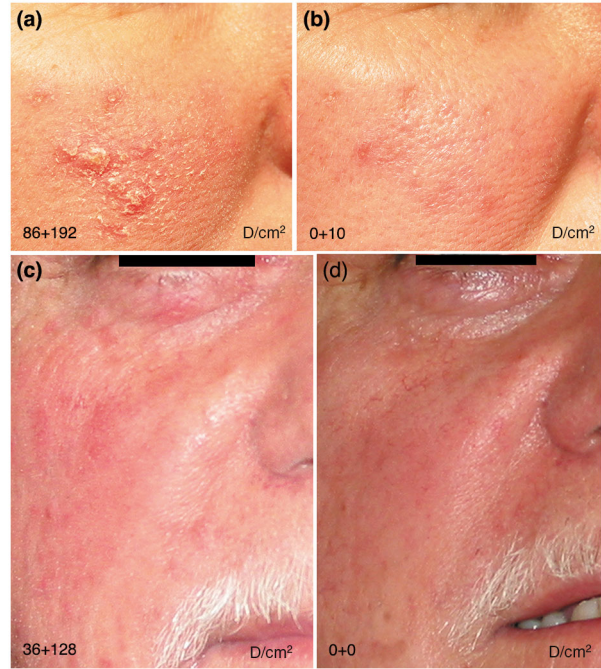


Figure 3 Papulopustular rosacea: evolution with topical treatment. Right cheeks of two patients with papulopustular rosacea. The successive standardized skin surface biopsies (SSSB1 + SSSB2) values are indicated on the figures. Patients' permissions obtained. (a): A 38-year-old woman with papulopustular rosacea for 1 year. She was prescribed BB12% 1×/d. (b): Two months later, the Demodex density had normalized and symptoms were reduced although not completely cleared: follicular scales and papules had disappeared but residual erythema persisted where the papulopustules had been present. According to the investigator global assessment, her symptoms were therefore considered as 'not cleared'. (c): Papulopustular rosacea: A 69-year-old patient with papulopustular rosacea for 3 years, with blepharitis and conjunctivitis; he had already seen 3 dermatologists and received many treatments (tetracyclines, oral and topical metronidazole, anti-redness creams, corticosteroids, preparation with crotamiton, erythromycin, metronidazole and ketoconazole) without success. We prescribed BB20% 1×/d and treatment for the eyelashes (washing lotion and fucidic acid ophthalmic ointment 2×/d). (d): Two months later, the patient was cured: his Demodex density had normalized and his symptoms (follicular scales and papules) had cleared. This patient, seen recently, was not included in the study.

In an earlier study, we observed a small degree of acaricidal action of crotamiton, so we always prescribe this in combination with BB.¹⁴ In the first two groups (BB12% 1×/d and 2×/d), crotamiton was applied twice a day, but there was still a clear difference in favour of the twice-daily application of BB12%. Moreover, the third application mode, in which crotamiton was applied only once a day, was as effective as the twice-daily application of BB12% (with crotamiton). These observations suggest that the main acaricidal effects were caused by BB and not crotamiton.

Interestingly, compliance was better in the BB12% 2×/d group than in the BB12% 1×/d group, despite the known irritating properties of BB: this may be related to the fact that compliance and effective treatment were related. Moreover, compliance in the BB20% 1×/d group was not significantly different to the compliance in the BB12% groups despite the higher concentration of BB. This observation may be explained by the fact that these patients used a moisturizing cream in the morning, potentially easing the irritating action of the BB, and also by the small number of patients in this group.

Topical ivermectin, with its anti-inflammatory and direct killing action on mites,¹⁶ has been proposed for the treatment of PPR since 2014.^{11–13,16,17} In our practice, we have observed that patients are less tolerant of BB regimens than of ivermectin. Nevertheless, BB is considerably cheaper and could be useful for patients allergic to ivermectin or when ivermectin is not available.

Of note, BB has no anti-inflammatory action (unlike ivermectin) and may potentially have pro-inflammatory effects, causing skin irritation. Its therapeutic effects are therefore attributable solely to its acaricidal action. Our observation that BB is an effective treatment in rosacea and in demodicosis, thus strongly supports a key role of the mite in rosacea.

In some patients, symptoms cleared but Dds did not normalize: this observation may be explained by the fact that symptoms (particularly more discreet ones, such as follicular scales) can resolve when the Dd decreases, even if not yet normalized, as in subclinical demodicosis.¹⁸

Our study has several limitations including its retrospective nature; the small number of patients in the BB20% 1×/d group; the different excipients used in the BB12% 1×/d group and the range of BB concentrations for the BB20% 1×/d group; the reliance on patient statement for assessment of compliance; the use of dichotomous IGA and not grades^{19,20} to assess symptom evolution. Moreover, as the majority of patients with PPR in our practice have mild to moderate rosacea, results may be different in patients with more severe PPR.

In conclusion, after an average treatment period of just 2.7 months, topical application of BB (with crotamiton) was effective at reducing Dds and clearing clinical symptoms, not only in demodicosis but also in rosacea with papulopustules, indirectly supporting a key role of the mite in the pathophysiology of rosacea. Among the three application modes, the two higher dose regimens (BB20% 1×/d and BB12% 2×/d) were more effective than the lower dose (BB12% 1×/d), with similar or better compliance.

Acknowledgements

We thank Prof M Parmentier, Prof V. del Marmol and Prof C Verhoeven, for their constructive remarks, Dr K Pickett for proofreading and our patients for agreeing to participate in the study.

References

- Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; **69**: 419–423.
- Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 1219–1225.
- Tan J, Almeida L, Bewley A *et al.* Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea Consensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 431–438.
- Bikowski JB, Del Rosso JQ. Demodex dermatitis: a retrospective analysis of clinical diagnosis and successful treatment with topical crotamiton. *J Clin Aesthet Dermatol* 2009; **2**: 20–25.
- Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC *et al.* Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018; **179**: 420–430.
- Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD *et al.* Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 441–444.
- Casas C, Paul C, Lahfa M *et al.* Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; **21**: 906–910.
- Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 2017; **97**: 242–248.
- Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**: 19–28.
- Schaller M, Schöfer H, Homey B *et al.* Rosacea Management: update on general measures and topical treatment options. *J Dtsch Dermatol Ges* 2016; **14**(Suppl 6): 17–27.
- Siddiqui K, Stein Gold L, Gill J. The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of rosacea: a network meta-analysis. *SpringerPlus* 2016; **5**: 1151.
- Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol* 2015; **172**: 1103–1110.
- Forton F, Seys B, Marchal JL, Song M. Demodex folliculorum and topical treatments: acaricide action evaluated by standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 461–466.
- Harmelin Y, Delaunay P, Erfan N *et al.* Interest of confocal laser scanning microscopy for the diagnosis and treatment monitoring of demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; **28**: 255–257.
- Schaller M, Gonser L, Belge K *et al.* Dual anti-inflammatory and anti-parasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**: 1907–1911.
- Stein Gold LS, Kircik L, Fowler J *et al.* Efficacy and safety of ivermectin 1% cream in treatment of papulopustular rosacea: results of two randomized, double-blind, vehicle-controlled pivotal studies. *J Drugs Dermatol* 2014; **13**: 316–323.
- Forton FMN, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis. A case control study. *Br J Dermatol* 2019; **181**: 818–825.
- Wilkin J, Dahl M, Detmar M *et al.* Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2004; **50**: 907–912.
- Staedtler G, Shakery K, Endrikat J, Nkulikiyinka R, Gerlinger C. An empirically generated responder definition for rosacea treatment. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017; **10**: 347–352.

Cette première étude confirme l'effet acaricide et clinique du traitement par le benzoate de benzyle : en moins de 3 mois, **20% des patients sont guéris** (sans symptômes et avec Dd normalisée) et 26% supplémentaires montrent une efficacité partielle du traitement (soit disparition des symptômes, soit normalisation de la Dd) ; **la Dd totale (SSSB1+2) moyenne a diminué de 72%**.

L'efficacité, tant clinique qu'acaricide, est similaire parmi les patients atteints de PPR-suggestive et ceux atteints de démodécie, ce qui soutient indirectement mais fortement le rôle du Demodex dans la rosacée, d'autant plus que le benzoate de benzyle est connu pour ses propriétés irritantes et qu'on ne lui connaît pas d'action anti-inflammatoire.

Par ailleurs, le crotamiton semble ne jouer qu'un rôle mineur dans les effets observés, ce qui corrobore son effet acaricide moindre constaté en 1998 dans notre petite étude randomisée (§ 3.4 : après 45 jours de traitement, une baisse de densité (SSSB1 seule) de 64% avait été observée avec le crotamiton, et de 98% avec le benzoate de benzyle).²⁶⁸

Les deux traitements les plus intenses ont montré une efficacité similaire, qui est supérieure par rapport au traitement moins concentré.



4.2.8.2. L'épisode entier⁵⁶³

Pour l'étude portant sur le premier épisode en entier, les deux traitements plus intenses ont été regroupés dans un même groupe « high dose » (§ 4.1.2.3.F.), qui a été comparé au traitement moins concentré (groupe « low dose »).

ARTICLE



Effectiveness of benzyl benzoate treatment on clinical symptoms and Demodex density over time in patients with rosacea and demodicosis: a real life retrospective follow-up study comparing low- and high-dose regimens

Fabienne M. N. Forton^a  and Viviane De Maertelaer^b 

^aDermatology Clinic, Brussels, Belgium; ^bInstitut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie humaine et moléculaire (IRIBHM) & Service de Biostatistique et Informatique médicale (SBIM), Université Libre de Bruxelles (ULB), Brussels, Belgium

ABSTRACT

Background: Patients with rosacea and demodicosis have high facial skin Demodex densities (Dds), which decrease with benzyl benzoate (BB) treatment.

Objectives: To evaluate the impact of topical BB (+crotamiton) treatment on Dds and clinical symptoms during prolonged follow-up and to compare low (12% once daily) and high (12% twice daily or 20–24% once daily) BB dose regimens.

Methods: This retrospective study included 344 patients (103 rosacea, 241 demodicosis) observed for 7.1 ± 0.5 months. Dds were measured on two consecutive standardized skin surface biopsies and symptoms evaluated using investigator global assessment. Compliance was considered good if patients correctly followed treatment instructions.

Results: At final follow-up, in the 248 patients with good compliance, Dd had normalized in 217 (88%) and symptoms cleared in 204 (82%). The high dose was associated with better compliance and faster results than the low-dose. The higher the initial Dd, the longer it took to normalize. In the 96 poorly compliant patients, treatment was less effective and slower.

Conclusions: These findings indirectly support a key role of the mite in rosacea and suggest that topical treatment with BB (+crotamiton), especially the higher dose, may be a useful alternative treatment for rosacea as well as for demodicosis.

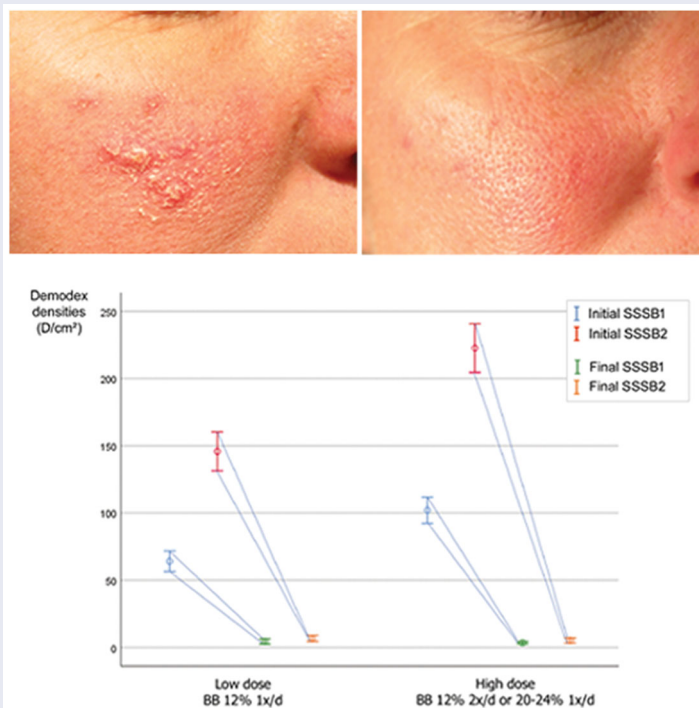
ARTICLE HISTORY

Received 7 March 2020

Accepted 13 May 2020

KEYWORDS

Demodex; rosacea; demodicosis; benzyl benzoate



Introduction

Rosacea and demodicosis are common dermatoses affecting about 10% of the population (1–3). Although a pathophysiological role of the *Demodex* mite is generally accepted in demodicosis, it remains controversial in rosacea with papulopustules (4,5). Nevertheless, evidence is accumulating to support a key role of the mite in this condition, including the high mean *Demodex* densities (Dds) consistently observed in rosacea with papulopustules (6–13), the ability of the mite to induce both immunosuppression (favoring its own proliferation) and immunostimulation (inducing inflammation and papulopustules) (9,13–17), and the beneficial effects of topical acaricidal treatment in patients with rosacea with papulopustules (18–26). Moreover, recent guidelines for the treatment of rosacea include use of ivermectin, an acaricidal agent, as a first line topical treatment for rosacea with papulopustules (19–23).

In 1998, in a small pilot randomized study, we demonstrated the acaricidal action of benzyl benzoate (BB), and to a lesser extent of crotamiton, on *D. folliculorum* (27). BB and crotamiton are acaricides used in the treatment of scabies mite infestation. BB is relatively nontoxic but may irritate the skin and eyes, can give rise to contact dermatitis and, when ingested, may cause stimulation of the central nervous system and convulsions (28). These treatments have been poorly studied in rosacea and demodicosis (24,25), but, until 2014 when ivermectin became available, we treated nearly all our patients with rosacea with papulopustules or demodicosis with a topical cream composed of these two molecules.

Recently, using two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs) taken from the same site, we proposed a diagnostic test for rosacea and demodicosis based on the Dd: presence of a first, superficial biopsy density (SSSB1) >5 D/cm² or a second, deeper biopsy density (SSSB2) >10 D/cm² (12). Of the 844 patients with rosacea or demodicosis included in that study, we followed the 394 who had no associated facial dermatosis, were not receiving any anti-inflammatory treatment (e.g. tetracyclines or metronidazole) and were treated with BB (with crotamiton). At their first follow-up visit, an average of 2.7 months after treatment start, the topical BB treatment was shown to be effective at reducing Dds (normalizing them in 35% of the patients) and clearing clinical symptoms (in 31%) (26). Doses of 20–24% BB applied once daily and 12% BB applied twice daily were more effective than a lower dose of 12% BB applied once daily (26).

In the present study, we analyzed the longer term effects of BB treatment on Dds and clinical symptoms in these patients, hypothesizing that treatment with the higher doses would remain more effective than treatment with the lower dose.

Materials and methods

Patients

This is a subanalysis follow-up study of some patients from an earlier retrospective study (12) and was approved by the Erasme Hospital Ethics Committee. All patients attending our dermatology practice in Brussels between 2002 and 2010 with rosacea with centro-facial papulopustules (according to the consensus of 2002 in effect at that time (2)) or demodicosis were included in the original study (12) and followed up until 2016. Initial follow-up data for the 394 patients with no associated facial dermatosis, not receiving any anti-inflammatory treatment (e.g. tetracyclines or metronidazole) and treated with BB (with crotamiton) have been published previously (26). For this longer term follow-up, we further analyzed these 394 patients, including only the first episode of the disease and not analyzing any relapses. We also excluded patients in whom the dose of BB was altered from high-dose to low-dose or low-dose to high-dose during the study period.

Demodex density sampling method

The SSSB is a sampling method in which 1 cm² of the superficial part of the horny layer and of the follicular content is collected (3,6,12,16,29–36). The technique is simple and uses tools that are readily available in most dermatology clinics. In our study, the patient's skin and the microscope slides were first cleaned with ether and two SSSBs were then performed consecutively at the same place, allowing measurement of two Dds (D/cm²): superficial (SSSB1) and deep (SSSB2) (Figure 1) (12). Full details of the method, including an online video, are available in an earlier publication (12). The SSSBs were performed at the site of the main skin lesions, preferably on the cheek if affected (because the highest Dds have been observed here) (7,8).

Treatment regimens

Patients were instructed to wash the face twice a day using a handcloth and a mild soap and, after 2 or 3 min, when the skin

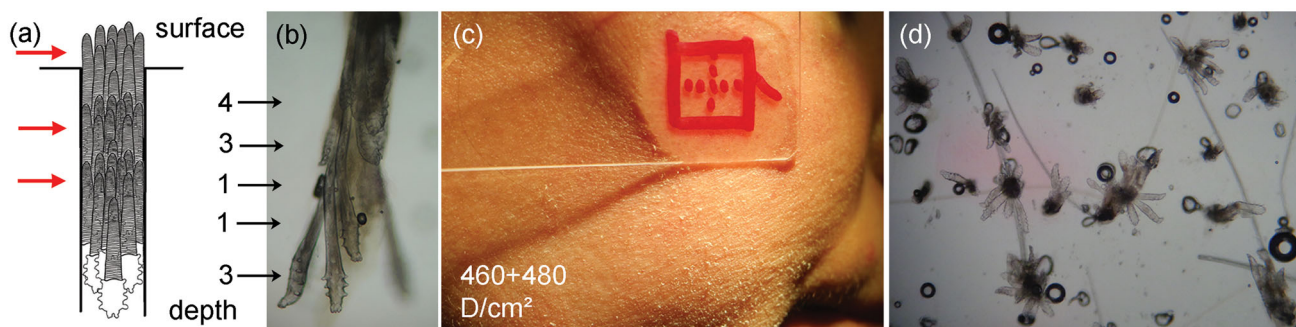


Figure 1. Two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs) for collecting *Demodex folliculorum* dispersed along the follicles. (a) Schematic representation of numerous *Demodex* mites, agglutinated at different levels (arrows) inside the follicle. (b) Microscopic view ($\times 100$) of 12 *Demodex folliculorum* agglutinated at different levels of the follicle on a standardized skin surface biopsy (SSSB) (the numbers next to the arrows indicate the number of mites at each level). (c) The lamina of the standardized skin surface biopsy (SSSB) is glued to the right cheek of a 41-year-old woman, with pityriasis folliculorum (SSSB1 + SSSB2 are indicated on the figure). (d) Microscopic view ($\times 40$) of numerous *Demodex folliculorum* ($n = 73$) as they usually appear on SSSB: one level of *Demodex* is observed in each follicle, with 1–9 D/follicle. This figure is reproduced with permission from Forton and De Maertelaer (12).

is dry, to apply the topical cream all over the face and neck, avoiding the eyelashes and lips. The prescribed BB treatment regimens varied over time as we gained experience with the different regimens in our practice and received feedback from our patients. Hence, in our earlier patients, treated from 2002, we recommended that they applied a cream composed of 10% crotamiton in the morning, and another composed of 12% BB and 10% crotamiton in the evening ('12%BB 1x/d'); different excipients were used (carbopol gel, cetylic cream, cosmetic cream, therapeutic magistral form (TMF) cetomacrogol cream). From October 2006, we prescribed a cream composed of 12% BB and 10% crotamiton (in TMF cetomacrogol cream) twice a day ('12%BB 2x/d'). Finally, from May 2010, we prescribed a moisturizing cream in the morning and a cream composed of 20–24% BB (with 10% crotamiton in TMF cetomacrogol cream) in the evening ('BB20%1x/d'). Over time, we also introduced various refinements to improve tolerance (e.g. to apply the cream early in the evening and not just prior to going to sleep (which prevents the cream from accidentally getting into the eyes), and to apply a thin layer of cream for the first few weeks and a thicker layer afterwards).

As the two higher dose regimens (BB12% 2x/d and BB20% 1x/d) showed very similar effects at the first patient follow-up appointment (26), and were both better than the 12% 1x/d dose, in the present study we grouped these patients together as high-dose and compared them to those treated with the lower dose of 12%BB 1x/d.

Data collection

Two consecutive SSSBs were performed at the first consultation and at each of the follow-up visits, on the same site each time (6,12). At the initial consultation, we recorded the date of consultation, age, sex, clinical diagnosis, location of the SSSBs, Dd values, and treatment. Patients were requested to return for follow-up every two months at least until their symptoms had cleared and their Dds were normal. At each follow-up visit, we noted the date of consultation, Dd values, whether symptoms had cleared or persisted, compliance with treatment since the previous visit, and any prescribed treatment. Compliance was considered good if, at all follow-up visits, the patient stated he/she had correctly followed treatment instructions. Patients who reported that they had not correctly followed treatment instructions at one (or more) of the follow-up visits were considered to have poor compliance and were analyzed separately.

At the final patient follow-up, the effects of the high- and low-dose treatment regimens were compared using six criteria:

1. the absolute decreases in SSSB1 and SSSB2 from values at the initial consultation, to detect a potential preferential action of the treatment on the superficial or deep layer of mites;
2. the relative decrease in SSSB1 + 2 from the initial consultation value, to evaluate the evolution of the total Dd over time;
3. the percentage of patients in whom the Dd had normalized (i.e. $SSSB1 \leq 5 \text{ D/cm}^2$ AND $SSSB2 \leq 10 \text{ D/cm}^2$) (12);
4. the percentage of patients whose symptoms had cleared. This was assessed using investigator global assessment (IGA) considering only complete disappearance of all symptoms (follicular scales, papules, pustules, folliculitis, etc.); a

decrease in the number or severity of clinical symptoms was not recorded.

5. the percentage of patients with effective treatment (normalized Dd OR no symptoms);
6. the percentage of cured patients (normalized Dd AND cleared symptoms).

We also recorded the time-point at which the patients first normalized their Dds and/or cleared their symptoms.

Statistical analysis

Continuous variables are summarized by their means and their standard error (SEM) (Min–Max) and qualitative variables as sample sizes and percentages. Differences in continuous variables were compared between groups using an analysis of covariance (ANCOVA), including age and sex as covariates, followed by Sidak tests for multiple comparisons if required. In the absence of age and sex effects, continuous variables were compared using classical Student's *t*-tests or Welch's tests in case of variance inequality, or with analyses of variance (ANOVA) followed by Sidak's or Dunnett's T3 multiple comparison tests when required according to the results of the Levene test for homoscedasticity. Differences in qualitative variables were compared between groups using Pearson's exact chi-square tests. Correlations between initial SSSB1 + 2 and times to achieve treatment effects were assessed using Pearson's correlation coefficient. Statistical significance was considered when *p* was <.05. All statistical tests were performed using IBM-SPSS (version 24.0) software (IBM Corp, Armonk, NY) or MedCalc Statistical Software (version 14.12.0; MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium).

Results

Patients and treatments

Among the 394 patients included in our previous study (26), 148 were prescribed low- and 196 high-dose BB throughout their treatment course: these 344 patients were included in the present study. Their mean age was 47.3 ± 0.8 (range 7.4–90.5) years; 69% were women (237/344). The cheek was the most frequent biopsy site (293/344 [85%]). The mean duration of follow-up was 7.1 ± 0.5 (range 0.4–72) months, with a mean of 3.0 ± 0.07 (range 2–9) consultations/patient, and a mean period between two consultations of 2.1 ± 0.2 (range 0.2–33) months.

Two hundred and forty-eight (72%) patients were identified as having good and 96 (28%) poor compliance (Table 1); more patients in the high-dose (153/196 [78%]) than in the low-dose (95/148 [64%]) group had good compliance (*p*=.005) (Figure 2). Patients with poor compliance were slightly younger and had fewer consultations/patient than patients with good compliance (Table 1).

Effects of treatment in patients with good compliance

Among the 248 patients with good compliance, 95 (38%) were treated with the low-dose regimen: the excipients were cosmetic cream, cetomacrogol, cetylic cream, carbopol cream alone for 50, 14, 11, and 7 patients, respectively; 13 patients received several different excipients, consecutively. Twenty of the patients who were cured received maintenance therapy: 17 an acaricidal cream, one a sulfur shampoo, and two received both. One hundred and fifty-three of the patients (62%) were treated with a high-dose regimen. Fifty-one of these patients, when

Table 1. Demographic data and effects of benzyl benzoate treatment: comparison between the two treatment groups in compliant patients, and between patients with good and poor compliance.

	Patients with good compliance		ALL patients		p Value
	Low dose BB (12% 1x/d)	High dose BB (12% 2x/d or 20–24% 1x/d)	Good compliance	Poor compliance	
Patient characteristics					
Number of patients	95	153 ^c	248	96	
Age (years)	49.4 ± 1.6	47.9 ± 1.4	48.4 ± 1.0	44.2 ± 1.3	.014
Mean ± SEM					
Women	74 (78%)	98 (64%)	172 (69%)	65 (68%)	.796
Diagnosis					
Demodicosis ^a					
n (%)	69 (73%)	98 (64%)	167 (67%)	74 (77%)	
Rosacea with papulopustules ^b					
n (%)	26 (27%)	55 (36%)	81 (33%)	22 (23%)	.088
Proportion rosacea/demodicosis	26/69	55/98	81/167	22/74	
Follow-up					
Number of consultations/patient					
Mean ± SEM	3.5 ± 0.1 2–8	3.0 ± 0.1 2–6	3.2 ± 0.7 2–8	2.7 ± 0.1 2–9	.004
Total duration of follow-up (months)					
Mean ± SEM	7.5 ± 0.6	6.6 ± 0.7	7.0 ± 0.5	7.6 ± 1.2	.630
Mean time between two visits					
Mean ± SEM	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	2.0 ± 0.1	2.6 ± 0.5	.183
Standardized skin surface biopsies					
Comparison of position of biopsy sites					
Biopsy site on the cheek					
n (%)	76 (80%)	135 (88%)	211 (86%)	82 (85%)	.974
SSSB1: number of Demodex/cm ²					
Initial mean ± SEM	64 ± 8	102 ± 10	88 ± 7	92 ± 11	.731
Initial range	0–360	0–616	0–616	2–636	
Final mean ± SEM	5 ± 2	4 ± 1	4 ± 1	38 ± 7	<.001
Final range	0–174	0–94	0–174	0–440	
Decrease mean ± SEM	60 ± 8	99 ± 10	84 ± 7	54 ± 10	.021
SSSB2: number of Demodex/cm ²					
Initial mean ± SEM	146 ± 15	223 ± 18	193 ± 13	226 ± 19	.166
Initial range	1–752	2–1256	1–1256	5–864	
Final mean ± SEM	7 ± 2	5 ± 2	6 ± 1	61 ± 9	<.001
Final range	0–154	0–244	0–244	0–560	
Decrease mean ± SEM	139 ± 14	217 ± 18	187 ± 12	165 ± 18	.326
SSSB1 + 2: number of Demodex/cm ²					
Initial mean ± SEM	210 ± 19	325 ± 25	281 ± 17	318 ± 26	.235
Initial range	10–776	12–1440	10–1440	14–1168	
Final mean ± SEM	11 ± 4	9 ± 2	10 ± 2	99 ± 14	<.001
Final range	0–328	0–293	0–328	0–646	
Decrease mean ± SEM	199 ± 18	316 ± 24	271 ± 17	219 ± 23	.093
SSSB1 + 2: % decrease from initial					
Mean ± SEM	94 ± 1	96 ± 1	95 ± 1	62 ± 4	<.001
Treatment effects					
Normalized Dd at final follow up					
n (%)	81 (85%)	136 (89%)	217 (88%)	19 (20%)	<.001
Cleared symptoms at final follow up					
n (%)	76(80%)	128 (84%)	204 (82%)	21 (22%)	<.001
Only normalized Dd					
n (%)	10 (11%)	18 (12%)	28 (11%)	4 (4%)	.060
Only cleared symptoms					
n (%)	5 (5%)	10 (7%)	15 (6%)	6 (6%)	1.000
Effective treatment					
n (%)	86 (91%)	146 (95%)	232 (94%)	25 (26%)	<.001
Cured					
n (%)	71 (75%)	118 (77%)	189 (76%)	15 (16%)	<.001

Statistically significant values are shown in bold.

^a241 patients with demodicosis: 180 pityriasis folliculorum, 36 follicular eczematids, 16 folliculitis, 2 isolated papules, 7 hyperpigmentation.^b103 patients with rosacea with centro-facial papulopustules: 92 rosacea with persistent erythema and 11 rosacea without persistent erythema.^c94 (61%) received only BB12% 2X/d, 20 (13%) only BB20% 1X/d, and 39 (26%) received both successively.

cured, received maintenance treatment: seven an acaricidal cream, seven a sulfur shampoo, and 37 both acaricidal cream and a sulfur shampoo. There were more women and more consultations/patient in the low-dose group than in the high-dose group; otherwise, there were no statistically significant differences between the groups (Table 1).

The mean Dds were all higher in the high-dose group than in the low-dose group at the initial consultation, but were not significantly different at the final consultation (Table 1, Figure 3). The mean decreases in SSSB1, SSSB2, and SSSB1 + 2 were significantly greater in the high-dose than in the low-dose group, but the relative decreases in total number of mites

(SSSB1 + 2) from their initial values were not significantly different in the two treatment groups (Table 1, Figure 3).

At the final follow-up, Dd had normalized in 217 (88%) of the patients and symptoms had cleared in 204 (81%), with no significant differences between the treatment groups (Table 1, Figure 4). Symptoms were cleared more often in patients with demodicosis than with rosacea (146/167 [87%] vs. 58/81 [72%], $p=.003$), but there were no significant differences between these groups in Dd normalization (146/167 [87%] vs. 71/81 [88%], $p=1.000$).

Treatment was effective in 232 (94%) of the patients: 189 (76%) were cured (normal Dd AND symptoms cleared), 28 (11%) had normalized Dd only (symptoms not cleared), and 15 (6%) had symptoms cleared only (Dd not normalized), with no significant differences between the treatment groups (Table 1). The times taken to achieve the different effects were shorter with the high-dose than with the low-dose regimen (Table 2).

There were no differences between men and women in the relative decrease in SSSB1 + 2, the proportion of patients with normalization of the Dd and the time taken to normalize the Dd or to clear symptoms among the 248 compliant patients or within each treatment group.

At the final attended follow-up, 31 patients had not normalized their Dd: 14/95 (15%) patients from the low-dose and 17/153 (11%) from the high-dose group ($p=.433$). The last measured mean Dds for these 31 patients were 26 ± 6 D/cm² for SSSB1 (range 0–174) and 38 ± 9 D/cm² for SSSB2 (range 2–244). Compared with the group of 217 patients who had normalized their Dds, these 31 patients had similar sex distributions, but higher initial Dds (SSSB1: $p=.051$ (limit); SSSB2: $p=.022$), higher final Dds (SSSB1: $p<.001$; SSSB2: $p=.001$), smaller relative

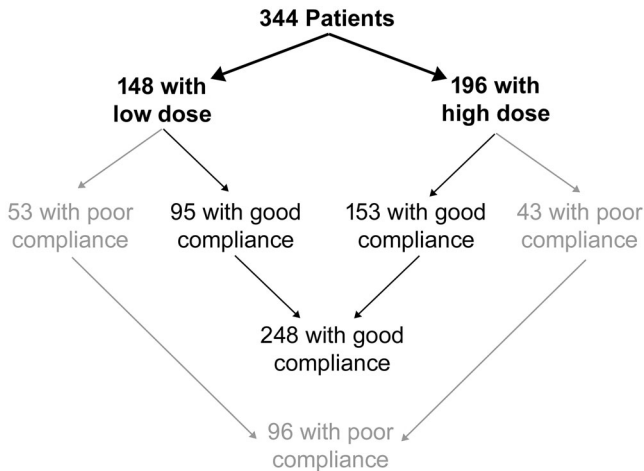


Figure 2. Number of patients in each group.

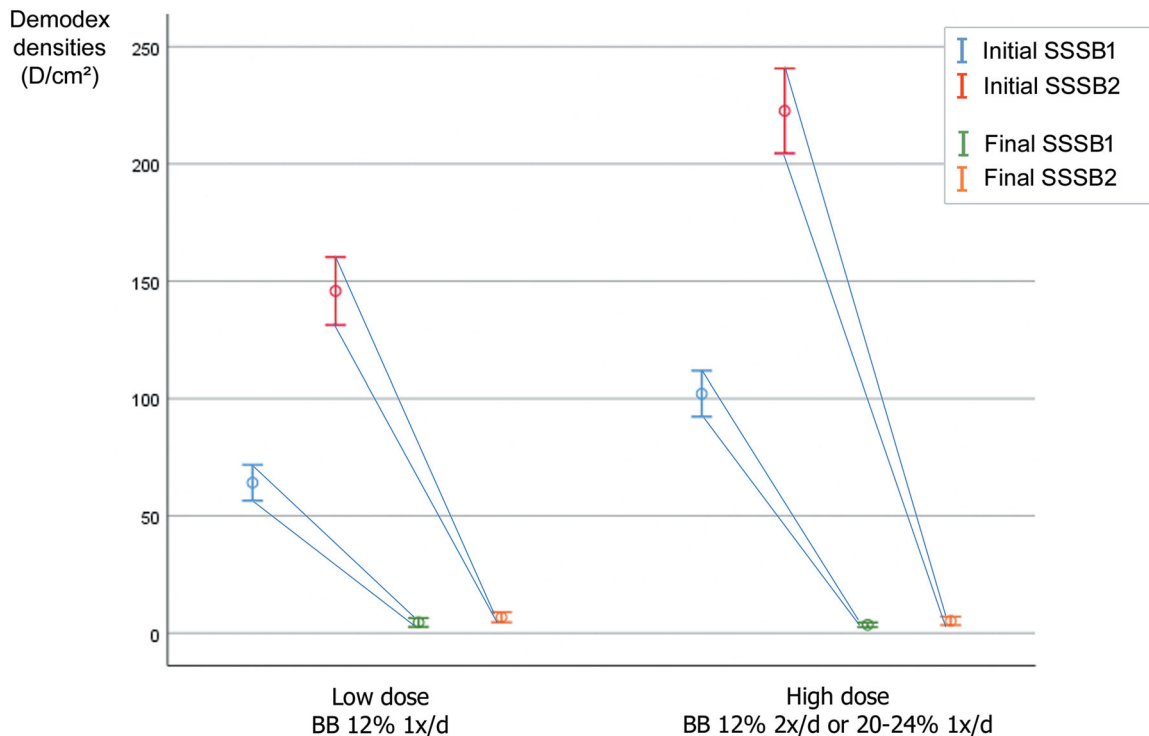


Figure 3. Initial and final Demodex densities (SSSB1 and SSSB2) in the two treatment groups among the 248 patients with good compliance. Initial SSSBs and mean decreases in SSSBs were higher in the high-dose than in the low-dose group (both $p=.002$ for SSSB1 and $.001$ for SSSB2), but there was no statistically significant difference between the groups for the final SSSBs. SSSB: standardized skin surface biopsy; BB: benzyl benzoate.

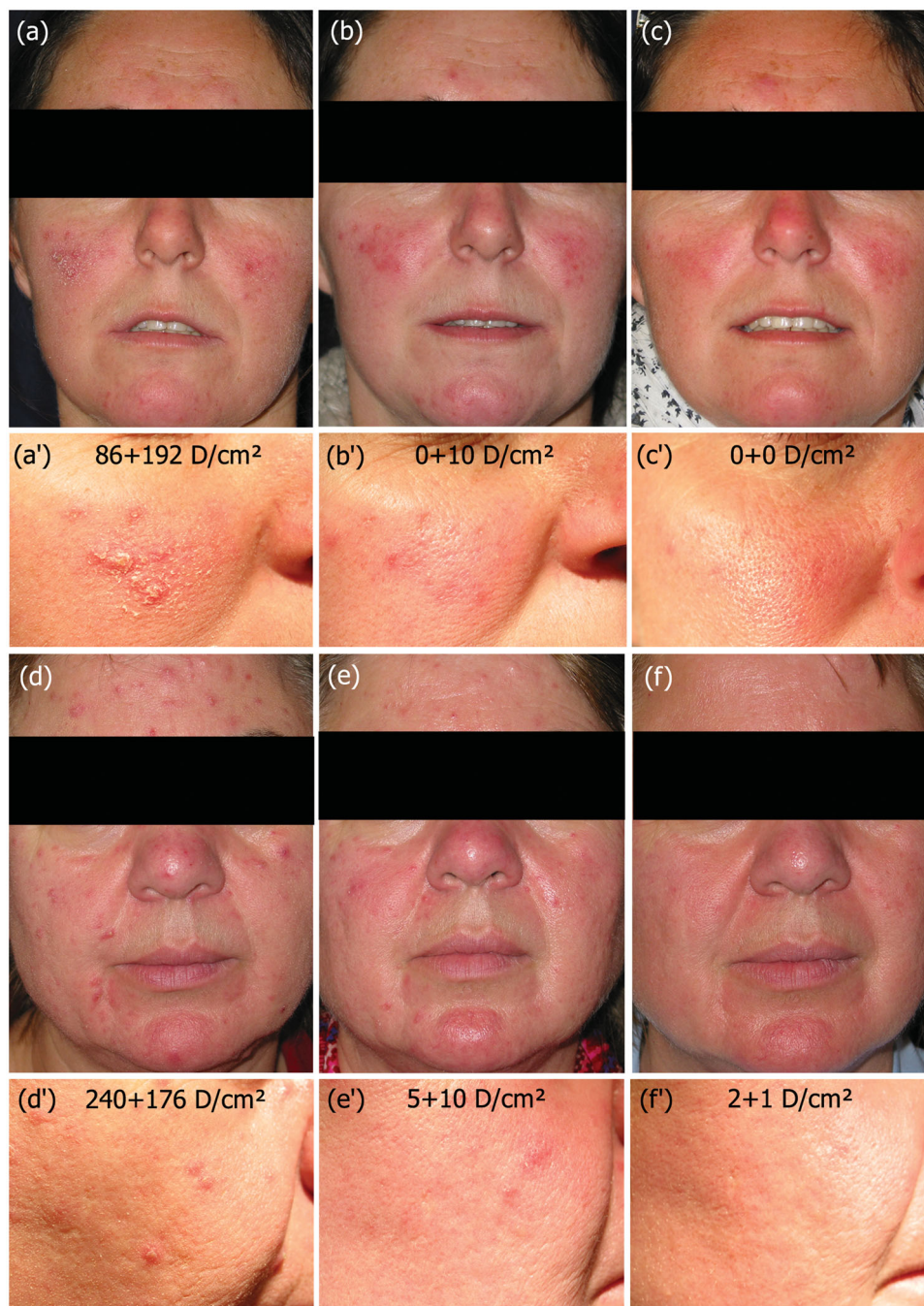


Figure 4. Clinical and Demodex density evolution in two patients with papulopustular rosacea treated with high dose benzyl benzoate. Face and right cheek of a 38-year old (panels a,a', b,b', c,c') and a 54 year-old (d,d', e,e', f,f') female patient with, respectively, a 1-year and 5-year history of papulopustular rosacea. The older patient, seen recently, was not included in the study. (a,a') and (d,d') Initial consultation: the two patients presented with central face papulopustules, persistent erythema and follicular scales; Demodex densities measured on their right cheeks were high. They were prescribed a moisturizing cream in the morning and a cream composed of 20% benzyl benzoate (with 10% crotamiton) in the evening. (b,b', e,e') Two months and seven weeks later, respectively, the Demodex densities had normalized and symptoms were reduced although not completely cleared. The first patient was asked to continue the same treatment; the second patient was prescribed a higher concentration cream (24% benzyl benzoate (with 10% crotamiton)). (c,c', f,f') Four and five months, respectively, after the treatments started, clinical symptoms had disappeared (only diffuse persistent erythema persisted) and Demodex densities were still normal: the patients were considered as cured, and asked to apply maintenance therapy (same topical cream applied just twice a week). The successive standardized skin surface biopsy (SSSB1 + SSSB2) values are indicated on the figures. Patients' permissions obtained. Panels a' and b' are reproduced with permission from Forton and De Maertelaer (26).

decrease in their total Dd (SSSB1 + 2) (79 vs. 97%; $p < .0001$), fewer consultations (2.7 ± 0.2 vs. 3.2 ± 0.8 [$p = .007$]) and shorter duration of follow-up (4.5 ± 0.8 vs. 7.3 ± 0.6 months [$p = .064$]). A larger percentage of these patients only returned for one

follow-up appointment (55 vs. 30%) and a smaller percentage came back three (3 vs. 20%) or four (3 vs. 10%) times.

The time to normalize the Dd was positively correlated with the initial value of SSSB1 + 2 for all patients ($r = 0.221$, $p = .001$)

Table 2. Time to achieve normalization of Demodex density (Dd) and/or symptom clearance for the first time (in months): comparison between the two treatment groups of compliant patients, and between the patients with good and poor compliance.

Observed effect	Patients with good compliance						All patients		
	Low dose BB (12% 1x/d)		High dose BB (12% 2x/d or 20–24% 1x/d)		Good compliance		Poor compliance		p Value
	n	Mean ± SEM	n	Mean ± SEM	n	Mean ± SEM	n	Mean ± SEM	
Dd normalization (regardless of the evolution of symptoms) ^a	81	4.2 ± 0.3	136	3.2 ± 0.2	217	3.6 ± 0.2	19	9.8 ± 2.3	.017
Cleared symptoms (regardless of the evolution of Dd) ^a	76	4.8 ± 0.3	128	3.4 ± 0.2	204	3.9 ± 0.2	21	14.1 ± 3.4	.008
Effective (time to first effect: Dd normalization OR cleared symptoms)	86	3.8 ± 0.3	146	2.8 ± 0.1	232	3.2 ± 0.1	25	11.9 ± 3.0	.008
Cure (Dd normalization AND cleared symptoms)	71	5.3 ± 0.4	118	4.0 ± 0.2	189	4.5 ± 0.2	15	12.3 ± 2.8	.013

^aAmong the compliant patients, the times taken to clear symptoms and to normalize Dd were statistically correlated ($p < .001$). For each treatment regimen, the average time taken to clear symptoms was slightly longer than the time to normalize Dd, but these values cannot be compared statistically because the 'Cleared symptoms' and 'Normalized Dd' groups contain some patients in common, the 189 cured patients. For these cured patients, the mean values were not statistically significantly different (4.0 ± 0.2 vs. 3.8 ± 0.2 months, respectively ($p = .282$)).

and for the two treatment groups separately (low dose $r = 0.229$, $p = .038$; high dose $r = 0.343$, $p < .001$).

The time to achieve symptom clearance was not correlated with the initial values of SSSB1 + 2, for the whole cohort ($r = 0.004$, $p = .960$) or for the two treatment groups separately (low dose $r = 0.097$, $p = .403$; high dose $r = 0.061$, $p = .490$).

Effects of treatment in patients with poor compliance

Among the 96 patients with poor compliance, 43 were treated with the high-dose and 53 with the low-dose regimen (Figure 2). In patients with poor compliance, treatment was less effective (Table 1) and slower (Table 2) than in the 248 patients who reported good compliance.

Discussion

Our observations, from real-life clinical practice, showed that after a mean of 7 months, topical treatment with BB (with cro-tamiton) was effective at normalizing Dds and at resolving clinical symptoms, if patients correctly followed treatment instructions. For the approximately one in four patients who were poorly compliant, treatment was much less effective.

In our earlier study focusing on the first follow-up visit, the two higher dose regimens were clearly better than the lower dose (26). In the present study, somewhat surprisingly, the difference between the high-dose and low-dose groups was attenuated, and not statistically significant at the final follow up. However, normalization of the Dd and symptom clearance were achieved more rapidly in the high-dose group, which may explain why higher doses appeared more effective in our previous study with the shorter follow-up (26).

Consistent with our earlier results (26), more patients treated with high-dose BB reported good compliance. The more rapid effects of this treatment regimen may in part explain this better compliance, despite the use of a higher dose of a potentially irritant molecule: indeed, patients may be more motivated to continue a treatment if beneficial effects are rapidly observed. The precautions we introduced over time to reduce irritation may also help explain the better compliance with the higher doses (which were used later in our study period).

Initial Dds were higher in the high-dose than in the low-dose group, perhaps because our ability to detect the mites under the microscope increased with time during the study period (and we used the higher doses later during the study period). As the final Dds were similar in the two groups, these higher initial Dds could partly explain the higher mean decreases in Dds in the high-dose group. Importantly, although it took longer for higher initial Dds to normalize, treatment effects were achieved more rapidly in the high-dose groups than in the low-dose group.

The observation that a higher initial Dd takes longer to normalize, whichever dose of BB is used, could have important clinical implications: when regular follow-up is impossible, the dermatologist could *a priori* prescribe longer treatment durations for patients with higher Dds. By contrast, the time to achieve symptom clearance was not correlated with a higher initial Dd, suggesting that symptom clearance may depend more on the intensity of the initial inflammatory symptoms. Indeed, symptom clearance occurred more frequently in the patients with demodicosis than in those with rosacea, probably because the papulopustules of rosacea (and especially the granulomas (37,38)) disappear more slowly than the less

inflammatory symptoms of demodicosis. This difference was not yet visible at the initial follow-up (26). In the 31 patients in whom the Dds had not normalized at their final follow-up, Dds had still decreased, suggesting the treatment was working, but was insufficient. As these patients had higher initial Dds than the other patients, one may have expected them to return for follow-up more often and for a longer period, but this was not the case, potentially explaining why the treatment appeared to work less well.

BB has no known anti-inflammatory action, and even potentially an irritant action, so its clinical effects can be attributed to its acaricidal action only, strongly supporting a key role of the Demodex mite in rosacea. Indeed, if the proliferation of the mite in such patients is an epiphenomenon as has been suggested (39), killing the mites would not resolve the symptoms. Therefore, contrary to current thinking (18,19,40), we may hypothesize that the most important action of ivermectin could be its acaricidal action (23,41,42), more than its anti-inflammatory properties. Indeed, Schaller et al. (22) showed that the mean Dd decreased dramatically already from 6 weeks of ivermectin treatment, which was confirmed by Logger et al. (43) and by Trave et al. (44) at 16 weeks of treatment.

BB has not been compared to ivermectin in a randomized study, but is known to be less well-tolerated and probably has a slower clinical action; however, it may have comparable acaricidal activity and a direct comparison between these treatments would be interesting. Compared with ivermectin, BB has the advantage of being very cheap and could, therefore, be a valuable choice, especially for countries where expensive treatments are not available or difficult to obtain.

Our study has several limitations. First, it was a retrospective study so we are reliant on the data collected. The reasons for poor compliance and the presence of adverse effects were not routinely documented, but, when recorded, the main reasons for poor compliance were local irritation and the most common adverse effect was transient local irritation, with rare cases of contact dermatitis. Second, we relied on patient statements for assessment of compliance and the use of dichotomous IGA and not grades (45) to assess symptom evolution. Third, patients were not randomized to the different treatments and it is therefore impossible to separate out the effects of each component of the treatment (BB, crotamiton, excipient). Nevertheless, in our earlier study (26), we observed that when crotamiton was applied twice a day, with either BB12% once a day or BB12% twice a day, there was a clear difference in favor of the twice daily application of BB12%. Moreover, the regimen that included BB20% once a day, and in which crotamiton was applied just once a day, was as effective as the twice daily application of BB12% (with crotamiton). These observations suggest that the main acaricidal effects were caused by BB and not crotamiton. Fourth, we had no placebo treatment group for comparisons; however, the inferior results in the poorly compliant patients support the overall effectiveness of this treatment. Finally, the majority of patients with rosacea with papulopustules in our practice have mild to moderate rosacea, and results may be different in patients with more severe disease.

In conclusion, provided that patients correctly follow application instructions throughout their treatment, topical BB (with crotamiton) is effective at reducing Dds and clearing clinical symptoms over time, thus indirectly supporting a key role of the mite in the pathophysiology of rosacea. Although these real-life results need to be confirmed in randomized, controlled

studies, topical treatment with BB (with crotamiton), used carefully to limit irritation, may be a useful, cheap, alternative treatment for these dermatoses. The higher dose of BB seems preferable because it was associated with more rapid treatment effects and better compliance.

Acknowledgements

The authors thank Prof M Parmentier, Prof V del Marmol and Prof C Verhoeven, for their constructive remarks, Dr K Pickett for proofreading, and our patients for agreeing to participate in the study.

Disclosure statement

This article has no funding sources. Dr Forton occasionally worked as a consultant for Galderma. Prof De Maertelaer has no conflict of interest to declare. Contents of the manuscript have not been previously published and are not currently submitted elsewhere.

ORCID

Fabienne M. N. Forton  <http://orcid.org/0000-0003-2509-1044>
Viviane De Maertelaer  <http://orcid.org/0000-0001-6722-7267>

References

1. Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1989;69(5):419–423.
2. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46(4):584–587.
3. Forton F, Germaux MA, Bresseur T, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(1):74–87.
4. Chen WC, Plewig G. Are Demodex mites principal, conspirator, accomplice, witness or bystander in the cause of rosacea? *Am J Clin Dermatol*. 2015;16(2):67–72.
5. Tan J, Almeida L, Bewley A, et al. Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea Consensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol*. 2017;176(2):431–438.
6. Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol*. 1993;128(6):650–659.
7. Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 1993;28(3):443–448.
8. Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol*. 1998;37(6):421–425.
9. Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, et al. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2001;15(5):441–444.
10. Ya Z, Wu LP, Peng Y, et al. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol*. 2010;146(8):896–902.

11. Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, et al. Non-invasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol*. 2012; 167(5):1042–1047.
12. Forton F, Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol*. 2017;97(2):242–248.
13. Casas C, Paul C, Lahfa M, et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol*. 2012;21(12): 906–910.
14. Forton F. Demodex et inflammation périfolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. [Demodex and perifollicular inflammation in man: review and report of 69 biopsies]. *Ann Dermatol Vénéréol*. 1986;113(11): 1047–1058.
15. Akilov OE, Mumcuoglu KY. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(4):440–444.
16. Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(1):19–28.
17. Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, et al. Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol*. 2018;179(2): 420–430.
18. Stein Gold LS, Kircik L, Fowler J, et al. Efficacy and safety of ivermectin 1% cream in treatment of papulopustular rosacea: results of two randomized, double-blind, vehicle-controlled pivotal studies. *J Drugs Dermatol*. 2014;13(3): 316–323.
19. Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T, et al. Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol*. 2015;172(4): 1103–1110.
20. Schaller M, Schöfer H, Homey B, et al. Rosacea management: update on general measures and topical treatment options. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2016;14(Suppl. 6):17–27.
21. Siddiqui K, Stein Gold L, Gill J. The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of rosacea: a network meta-analysis. *SpringerPlus*. 2016;5(1):1151.
22. Schaller M, Gonser L, Belge K, et al. Dual anti-inflammatory and anti-parasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017; 31(11):1907–1911.
23. Ebbelaar CCF, Venema AW, Van Dijk MR. Topical ivermectin in the treatment of papulopustular rosacea: a systematic review of evidence and clinical guideline recommendations. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2018;8(3):379–387.
24. Bikowski JB, Del Rosso JQ. Demodex dermatitis: a retrospective analysis of clinical diagnosis and successful treatment with topical crotamiton. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2009;2(1):20–25.
25. Harmelin Y, Delaunay P, Erfan N, et al. Interest of confocal laser scanning microscopy for the diagnosis and treatment monitoring of demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28(2):255–257.
26. Forton FMN, De Maertelaer V. Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(2):365–369.
27. Forton F, Seys B, Marchal JL, et al. Demodex folliculorum and topical treatments: acaricide action evaluated by standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol*. 1998; 138(3):461–466.
28. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(D1):D1074–D1082.
29. Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu AK, et al. Is Demodex folliculorum larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2002;16(5):539–541.
30. Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. Demodex folliculorum in renal transplant patients. *Dermatology*. 1997;195(3):232–234.
31. Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, et al. Reflectance confocal microscopy vs. standardized skin surface biopsy for measuring the density of Demodex mites. *Skin Res Technol*. 2014;20(4):435–439.
32. Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N, et al. Incidence of Demodex folliculorum in patients with end stage chronic renal failure. *Ren Fail*. 2005;27(5):495–499.
33. Lazaridou E, Apalla Z, Sotiraki S, et al. Clinical and laboratory study of rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(4):410–414.
34. Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for measurement of the density of Demodex folliculorum: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. *Br J Dermatol*. 2010;162(5): 1124–1126.
35. Salem DA, El-Shazly A, Nabih N, et al. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of Demodex folliculorum. *Int J Infect Dis*. 2013;17(5):e343–e347.
36. Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog*. 2014;71–72:37–40.
37. Helm KF, Menz J, Gibson LE, et al. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 1991;25(6 Pt 1):1038–1043.
38. Aroni K, Tsagrani E, Lazaris AC, et al. Rosacea: a clinicopathological approach. *Dermatology (Basel)*. 2004;209(3): 177–182.
39. Thyssen JP. Are Demodex mites the best target for rosacea treatments? *Br J Dermatol*. 2019;181(4):652–653.
40. Del Rosso JQ, Tangchetti E, Webster G, et al. Update on the management of rosacea from the American Acne & Rosacea Society (AARS). *J Clin Aesthet Dermatol*. 2019; 12(6):17–24.
41. Ali ST, Alinia H, Feldman SR. The treatment of rosacea with topical ivermectin. *Drugs Today*. 2015;51(4):243. doi:10.1358/dot.2015.51.4.2318439.
42. Abokwidir M, Fleischer A B. Additional evidence that rosacea pathogenesis may involve demodex: new information from the topical efficacy of ivermectin and praziquantel. *Dermatol Online J*. 2015;21(9).
43. Logger J G M, Peppelman M, Van Erp P E J, et al. Value of reflectance confocal microscopy for the monitoring of rosacea during treatment with topical ivermectin. *The Journal of Dermatological Treatment*. *J Dermatolog Treat*. 2020;1–9. doi:10.1080/09546634.2020.1741501.

44. Trave I, Merlo G, Cozzani E, et al. Real-life experience on effectiveness and tolerability of topical ivermectin in papulopustular rosacea and antiparasitic effect on Demodex mites. *Dermatol Ther.* 2019;32:e13093. doi: 10.1111/dth.13093
45. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(6):907-912.

Cette deuxième étude confirme sur le long terme l'effet clinique et acaricide du benzoate de benzyle : si les patients appliquent le traitement comme demandé, après un follow-up moyen de 7 mois, **76% des patients sont guéris** (sans symptômes et avec Dd normalisée) **et 17% supplémentaires montrent une efficacité partielle** du traitement (soit disparition des symptômes, soit normalisation de la Dd).

L'efficacité sur la Dd est similaire parmi les patients atteints de PPR-suggestive et ceux atteints de démodécie, **la Dd totale (SSSB1+2) ayant diminué de 95%**, mais cette fois, les patients atteints de **PPR-suggestive voient moins souvent leurs symptômes disparaître** totalement que ceux atteints de démodécie (72% vs 86% ; $p=0,008$). Ceci s'explique aisément par le fait que les symptômes plus inflammatoires de la rosacée prennent plus de temps à disparaître que ceux des démodécies, moins inflammatoires (par exemple, les granulomes, observés dans bon nombre de RPPs, sont connus pour être très lents à se résorber). Cette moindre action sur les symptômes dans les PPR-suggestive que dans les démodécies n'enlève donc rien au fait que notre étude soutient également, indirectement mais fortement, le rôle du Demodex dans la rosacée. De plus, chez les patients chez qui les symptômes n'ont pas totalement disparu, ils ont très souvent diminué, mais nous n'avons pas pu le confirmer car nous n'avons pas utilisé un système d'évaluation tenant compte de l'intensité des symptômes.

En corolaire, nous avons observé que si **une haute densité initiale met plus de temps pour être normalisée**, elle ne signifie pas que les symptômes vont mettre plus de temps à disparaître. La vitesse de disparition des symptômes dépend probablement essentiellement de leur intensité initiale.

De façon assez surprenante, l'étude a montré que le traitement moins concentré du groupe « **low dose** » finit par montrer, au fil du temps, une efficacité similaire à celle des traitements plus concentrés du groupe "high dose" : il atteint juste les effets escomptés **moins rapidement** (tant au niveau de la normalisation de la Dd que de la disparition des symptômes) et est accompagné d'une **moins bonne compliance**.

Parmi les patients qui ne suivent pas les consignes (qui ont une mauvaise compliance), il y a globalement 4 fois moins de patients avec traitement efficace et ce résultat est 3 fois plus lent par rapport aux patients compliants, ce qui confirme, aussi, indirectement le lien entre le traitement et son effet.

5) DISCUSSION

5.1. Bilan

5.1.1. Etudes préliminaires et méthodologiques, commentaires connexes

Ces études ont montré que :

1. Le Demodex est associé à la présence d'inflammation périfolliculaire, et il peut quitter le canal folliculaire par un tropisme qui lui est propre ;
2. Les patients avec RPP ont une Dd plus élevée que les patients avec une peau saine, la Dd normale étant $\leq 5D/cm^2$ à la SSSB. Cette technique est proposée pour évaluer la Dd, mais n'est pas très sensible, ne prélevant que la couche superficielle des canaux folliculaires, et n'est donc pas adaptée pour évaluer la prévalence du parasite ;
3. Deux acaricides topiques sont efficaces sur le Demodex en application locale : le benzoate de benzyle et, dans une moindre mesure, le crotamiton ;
4. A Bruxelles, les démodécies sont fréquentes en consultation de dermatologie, au moins 1,5 fois plus fréquentes que la RPP, survenant chez des patients apparemment en bonne santé.

Ces articles ont défendu le point de vue que :

1. Le pityriasis folliculorum est probablement un état intermédiaire entre la peau saine et la RPP, le « chaînon manquant » permettant d'expliquer la survenue de la RPP ;
2. Contrairement à la SSSB, la microscopie confocale semble être aujourd'hui un outil réservé à la recherche et non au diagnostic courant des démodécies en consultation ;
3. En accord avec les connaissances actuelles, les termes choisis pour nommer les sous-types de démodécie ne peuvent pas sous-entendre que certaines démodécies inflammatoires soient secondaires à d'autres pathologies ; nous proposons les termes descriptifs de « inflammatoire/non inflammatoire ; isolée ou associée à une autre dermatose » et nous opposons à celles proposées (« primaire et secondaire ») ; le terme de Pityriasis folliculorum ne doit pas être changé ; la manifestation inflammatoire ou non de la démodécie dépend probablement de l'équilibre entre les actions opposées du parasite sur l'immunité (immunosuppressive et immunostimulante) ; la voie d'entrée dans la maladie influence probablement le tableau clinique, donnant suivant les cas une démodécie pseudo-rosacée ou une RPP, qui sont probablement deux manifestations, fortement intriquées, de la même maladie ; au minimum, la question de l'inclusion de la RPP dans les démodécies doit rester ouverte.

5.1.2. Etude globale rétrospective

Elle a, concernant les démodécies et les PPR-suggestives (et donc aussi la RPP) :

1. Proposé un **test diagnostic** sensible, spécifique et validé, qui permet aussi de suivre l'évolution sous traitement (§ 4.2.3. et 4.2.8.) ;
2. Mis en évidence des **symptômes** cliniques pouvant aiguiller le dermatologue vers le diagnostic (§ 4.2.4.) ;
3. Apporté une proposition de **traitement** alternative à l'ivermectine (§ 4.2.8.) ;
4. Mis en évidence de nombreuses **similitudes** entre ces « entités » :
 - Leur très haute densité en Demodex, contrairement aux contrôles sains et aux patients avec autres dermatoses faciales, qui permet de les diagnostiquer par un test diagnostic commun et, en corolaire, la rareté des patients avec Dd normale (1,3%) dans ces groupes (§ 4.2.2. et 4.2.3.) ;
 - La présence de symptômes cliniques discrets, retrouvés avec une fréquence similaire (squames folliculaires, prurit et symptômes du cuir chevelu) (§ 4.2.4.) ;
 - La possibilité de traitement identique acaricide (§ 4.2.8.) ;
 - Plus spécifiquement, au sein des PPR-suggestives, les patients atteints de RPP typique et de démodécie pseudo-rosacée ont une Dd et des symptômes similaires, la plupart (88%) présentant à la fois des caractéristiques cliniques attribuées tantôt à l'une ou à l'autre de ces deux « entités », certains patients présentant ces entités successivement (§ 4.2.5.).

Elle a également montré que :

1. **Des démodécies subcliniques** peuvent se « cacher » derrière l'apparence d'une peau saine ou celle d'une autre dermatose faciale (et donc, y être associée), et que ceci est particulièrement fréquent parmi les RETs (§ 4.2.6.) ;
2. Parmi **les facteurs qui semblent favoriser** la pullulation des parasites, en plus de la RET (§ 4.2.6. et 5.2.1.1. A.4.b.), l'âge et le sexe masculin sont confirmés, de façon telle que ces influences pourraient être associées au développement des **glandes sébacées ; la cortisone** (en usage topique ou général), semble moduler légèrement les hautes Dds vers le bas (§ 4.2.7.); la relativement haute prévalence d'**hypothyroïdie** dans notre population Demodex+ et la grossesse chez certaines femmes soulignent l'importance du **terrain immunitaire** ; les patients issus de la même famille soulignent l'influence du terrain génétique et de la contagion probable ; enfin, la seule bactérie retrouvée de façon significative est le **staphylocoque epidermidis**, ce qui confirme les données de la littérature (§ 4.2.7).

Ces observations ont des conséquences, tant du point de vue théorique que dans la pratique clinique.

5.2. Implications théoriques

5.2.1. Physiopathogénie

5.2.1.1. Arguments soutenant le rôle causal du Demodex dans la RPP

Les arguments soutenant le rôle du Demodex dans la rosacée sont nombreux et certains sont renforcés par nos récents travaux : certains soutiennent son rôle pathogène en général, et d'autres soutiennent son rôle pathogène dans la rosacée en particulier. Nous avons essayé de faire la part des choses, de les séparer, mais pour la logique de la présentation, nous avons gardé certaines interférences.

5.2.1.1. A. Le Demodex est un agent pathogène

5.2.1.1. A.1. Le Demodex libère des DAMPs (Damage-associated molecular patterns) qui stimulent l'immunité innée

Pour se nourrir et se déplacer, il agresse la paroi du follicule et de la glande sébacée, détériorant la barrière épidermique et même, occasionnellement, dermo-épidermique, avec des armes mécaniques (stylet, pédipalpes, palpes moteurs) et chimiques (ses enzymes salivaires, dont une lipase (libérant des acides gras potentiellement irritants)⁶⁶ et des protéases)⁶⁵ (§ 1.1.4.2. C., 3.1 et 3.9). Les protéases lui permettent de digérer les protéines structurelles résistantes, contribuant à détériorer la fonction barrière de la peau.⁵⁷² Or, une fonction barrière épidermique déficiente induit une réaction inflammatoire chronique qui initie une réaction de fibrose dermique :⁵⁷³ ce qui pourrait expliquer pourquoi le Demodex pourrait induire la fibrose présente dès les premiers stades de la rosacée³⁵⁷ et l'importance de cette fibrose dans le rhinophyma, si on considère que c'est sur le nez que la densité en follicules pilosébacés serait de loin la plus élevée.⁵⁷⁴

5.2.1.1. A.2. En tant que microorganisme, il est porteur de PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) stimulant l'immunité innée et d'antigènes stimulant l'immunité acquise

- Il a un exosquelette chitineux, or **la chitine** est bioactive sur les kératinocytes : elle est détectée par les TLR2, induit la libération de chimiokines et augmente l'expression de TLR4 par les kératinocytes ;⁵⁷⁵
- Son **exocuticule** protéique⁶⁴ pourrait constituer un Ag présentable par le CMH ;
- Ses **protéases** sont aussi immunogènes : des IgD et 2 anti-protéases (α 1 antitrypsine et α 1 anti chymotrypsine) ont été détectées sur sa cuticule ; elles pourraient être produites par l'homme, les Ig D pour contrôler la prolifération en Demodex et les anti-protéases pour détruire les protéases du Demodex.⁶⁵ Ces

protéases pourraient également interagir directement avec la balance des protéases/anti-protéases endogènes et au sein de la chaîne inflammatoire.⁵⁷²

- ses **endobactéries**, qui semblent nécessaires à sa survie, sont également susceptibles de provoquer des réactions immunogéniques (§ 1.1.4.2.C et 3.9);⁶⁷
- 22% des patients avec rosacée (24 RPP + 7 rosacées granulomateuses avec D) présentent des **anticorps spécifiques** réagissant avec des Ag extraits de *Demodex caprae* ;⁵⁷⁶ et des IgG anti-Demodex ont été mis en évidence dans le sérum d'un patient atteint de rosacée ;¹⁵⁵

- **Une réaction immunitaire lymphohistocytaire périfolliculaire** est observée autour des follicules infestés (§ 3.1),^{38,75,127,199,200,353} ainsi que des **granulomes à cellules géantes** autour de Demodex intradermiques, qui essaient de phagocytter le Demodex (§ 1.4.4.) ;^{12,38,75,79,127,226,344,353}

- Un rapport de cas clinique très intéressant fait état d'une démodécie unilatérale œdémateuse, avec un infiltrat extrêmement dense, sans atypie, constitué de lymphocytes T CD4⁺ et d'un peu de CD8⁺, oligo-clonal, ainsi que des granulomes à corps étrangers. Après traitement efficace par ivermectine per os et crotamiton topique, une nouvelle biopsie a montré une nette diminution de l'infiltrat ainsi que de son aspect monoclonal, suggérant que les Demodex sont bien responsables de cet **infiltrat oligo-/monoclonal** ;¹⁴⁴

- La stimulation des TLR2 par les *D folliculorum* présents en grand nombre a été récemment confirmée par une première **étude expérimentale** in vitro (§ 3.12) ;⁸⁵

- Le Demodex est un agent pathogène reconnu en **médecine vétérinaire**, où il déclenche une réaction inflammatoire inefficace, avec un profil d'**épuisement lymphocytaire**, lié à la persistance d'une grande quantité d'Ag (§ 1.2.4.).

5.2.1.1. A.3. Certaines déficiences immunitaires permettent sa prolifération excessive, suggérant que le système immunitaire sain contrôle sa prolifération :

- Chez la souris, il a été montré que certaines molécules (STAT6 (facteur de transcription qui contrôle de nombreux effets biologiques) et CD28) sont indispensables au bon fonctionnement de la réaction immunitaire Th2 qui contrôle la prolifération des Demodex : en cas de déficience associée des 2 molécules, les Demodex prolifèrent excessivement et la réaction immunitaire qu'ils stimulent en continu est totalement inefficace (Fig. 91).⁵⁷⁷ Ceci est tout à fait superposable au déroulement de la pathogénie de démodécie canine (§ 1.2.4.) et de la rosacée (§ 1.4.8.2), et également compatible avec l'histoire d'un épuisement lymphocytaire avec inflammation chronique inefficace (§ 7.3.2.).

- Chez l'homme, des éruptions diagnostiquées tantôt démodécie (§ 1.3.4.),^{265,266} tantôt « rosacée » (avec prolifération en Demodex) (§ 1.4.7.),³⁸⁵ ont été attribuées à

des mutations du gène STAT1 qui conduisent à un **déficit de la fonction des Th17**, avec une production réduite d'IL-17 et IL-22.^{265,266,385}

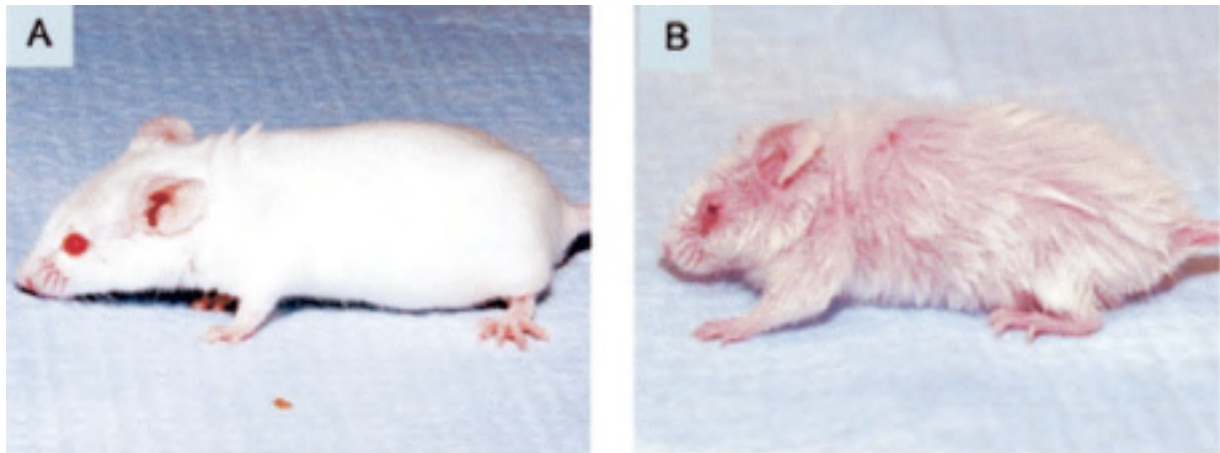


Fig. 91. Photographies de souris avec déficiences en STAT6 ou/et en CD28.

A. La souris déficiente soit en STAT6, soit en CD28, ne développe pas de démodicie.

B. La souris déficiente à la fois en STAT6 et CD28 développe spontanément une démodicie vers l'âge de 4 à 6 mois, qui répond au traitement acaricide : l'activation des lymphocytes T et l'augmentation de l'expression des cytokines dans les ganglions lymphatiques périphériques sont bien causées par l'infestation des Demodex dans les follicules pileux, car elles disparaissent après traitement acaricide.⁵⁷⁷

Figure reproduite depuis « Liu Q *et al.* Simultaneous deficiency in CD28 and STAT6 results in chronic ectoparasite-induced inflammatory skin disease. *Infect Immun* 2004; **72**: 3706–3715".⁵⁷⁷

5.2.1.1. A.4. Le Demodex induit une immunotolérance : en inhibant l'immunité adaptative ?

En tant que commensal, parasite obligé, le Demodex doit, à priori, trouver un moyen d'échapper à la surveillance continue du système immunitaire,⁷¹ ce qui est observé dans plusieurs études :

- **Dans la peau**, une Dd augmentée est inversement reliée aux marqueurs locaux de l'inflammation ;²¹³
- **Dans le sang**, elle est associée à une plus grande tendance à l'apoptose des lymphocytes circulants (avec moins de CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺), à une diminution de l'activité des leucocytes,²⁶⁴ à une augmentation des lymphocytes T régulateurs venant de la peau,²⁰² et n'est pas associée aux marqueurs généraux de l'inflammation et du stress oxydatif ;²⁴⁰
- **In vitro**, un effet inhibiteur des Demodex sur l'immunité de l'hôte a été confirmé expérimentalement: quand ils sont présents en petite quantité, ils régulent à la baisse la réponse des TLR.⁸⁵

Concernant **le mécanisme** par lequel le Demodex agit sur l'immunité de l'hôte, Foley *et al* suggèrent que le Demodex pourrait éventuellement bloquer certaines molécules nécessaires à une réponse immunitaire antiparasitaire efficace⁷¹ (ex : STAT6 et CD28 (§ 5.2.1.1. A.3.)).^{265,385,577} La réunion d'informations issues de la littérature dermatologique²⁰⁴ et immunologique récentes nous a amenée, pour notre part, à formuler d'autres **hypothèses physiopathogéniques** qui se complètent et **expliquent merveilleusement bien ce que nous avons observé en clinique (à savoir que la RET semble favoriser la pullulation des parasites).**

5.2.1.1. A.4.a. Hypothèse n°1 : Le Demodex pourrait induire l'immunotolérance des cellules dendritiques via son Ag Tn

Un article très discret d'anatomie pathologique publié en 1997²⁰⁴ a revêtu à nos yeux un intérêt totalement nouveau à la lumière de découvertes récentes en immunologie. Cet article signalait une petite astuce pour mettre en évidence les parasites dans les coupes histologiques grâce au marquage d'un antigène qui avait été observé par hasard sur et dans le corps du parasite : l'**Ag tumoral Tn**,²⁰⁴ qui est un précurseur de l'Ag T (Ag tumoral de Thomsen-Friedenreich) (§ 1.3.2.). Les antigènes T et Tn sont deux structures glycanes fréquemment exprimées par les tumeurs et corrélées à un mauvais pronostic et à une capacité accrue à métastaser.^{204,578} Comme le Demodex ne porte pas l'Ag T, qui est, lui, présent en abondance dans les sébocytes, mais uniquement l'Ag Tn, l'auteur suggère que cet Ag Tn du Demodex ne provient probablement pas directement des sébocytes ingérés, mais bien de son propre métabolisme.²⁰⁴

Or, en immunologie, il a été récemment montré que cet antigène Tn est reconnu par les cellules dendritiques (DCs) et déclenche alors une réaction d'immunotolérance.⁵⁷⁸ L'Ag Tn ne peut se lier qu'à un seul type de récepteurs sur les DCs : la Lectine de type Galactose des Macrophages (MGL),^{578,579} qui est présente à la fois sur les cellules dendritiques et les macrophages.^{578,580} Il a été montré que, lorsque cet Ag Tn se liait aux récepteurs MGL des DCs immatures, il induisait en elles, via la production d'**IL-10**, deux phénomènes qui semblent liés : (a) un changement métabolique diminuant la glycolyse (par blocage du changement de métabolisme vers la glycolyse), et (b) la stimulation de l'expression de cytokines induisant leur transformation en DCs tolérogènes⁵⁷⁸ (Annexe § 7.3.1.), ainsi que de récepteurs inhibiteurs (dont le PD-L1, programmed death ligand 1).^{578,581}

Lorsque, arrivée dans le ganglion lymphatique, la **DC tolérogène** entre au contact des **lymphocytes T naïfs** et leur présente un Ag via le CMH, elle induit leur transformation en deux types de lymphocytes qui contribuent de façons différentes à diminuer la réaction immunitaire efficace (Fig. 92).^{578,579,582}

De plus, il a été montré que l'**activation conjointe du récepteur MGL et du récepteur TLR2 amplifiait** les effets de la stimulation du TLR2, les deux récepteurs travaillant en synergie. Or, la stimulation du TLR2 induit deux réactions simultanées : (a) une réaction de défense pro-inflammatoire, peu importante (de tous les récepteurs TLR, le TLR2 est le moins pro-inflammatoire de tous : en fait, la stimulation du TLR2 n'est pas suffisante pour induire une maturation complète de la DC (Dr Van Vliet, communication personnelle 27/08/2020));^{583,584} (b) et aussi généralement une production d'IL-10, comme une sorte de boucle de rétroaction naturelle pour empêcher une inflammation excessive (qui pourrait entraîner des lésions tissulaires et des réactions auto-immunes). Cette production d'IL-10, suite à la stimulation du TLR2, est fortement augmentée par la stimulation conjointe du récepteur MGL.⁵⁷⁹

Par ailleurs, lorsque la **DC toléro-gène** entre au contact de **lymphocytes T effecteurs** exprimant le récepteur inhibiteur PD-1, le ligand PD-L1 de la DC s'unit à ce récepteur PD-1 du lymphocyte, ce qui entraîne aussi une perte de fonction du lymphocyte effecteur (Fig. 93).⁵⁸¹

Comme l'Ag Tn est exprimé par le Demodex,²⁰⁴ ces réactions décrites en immunologie pourraient très bien se produire également quand le Demodex, via son Ag Tn, entre en contact avec la cellule dendritique (Fig. 92).

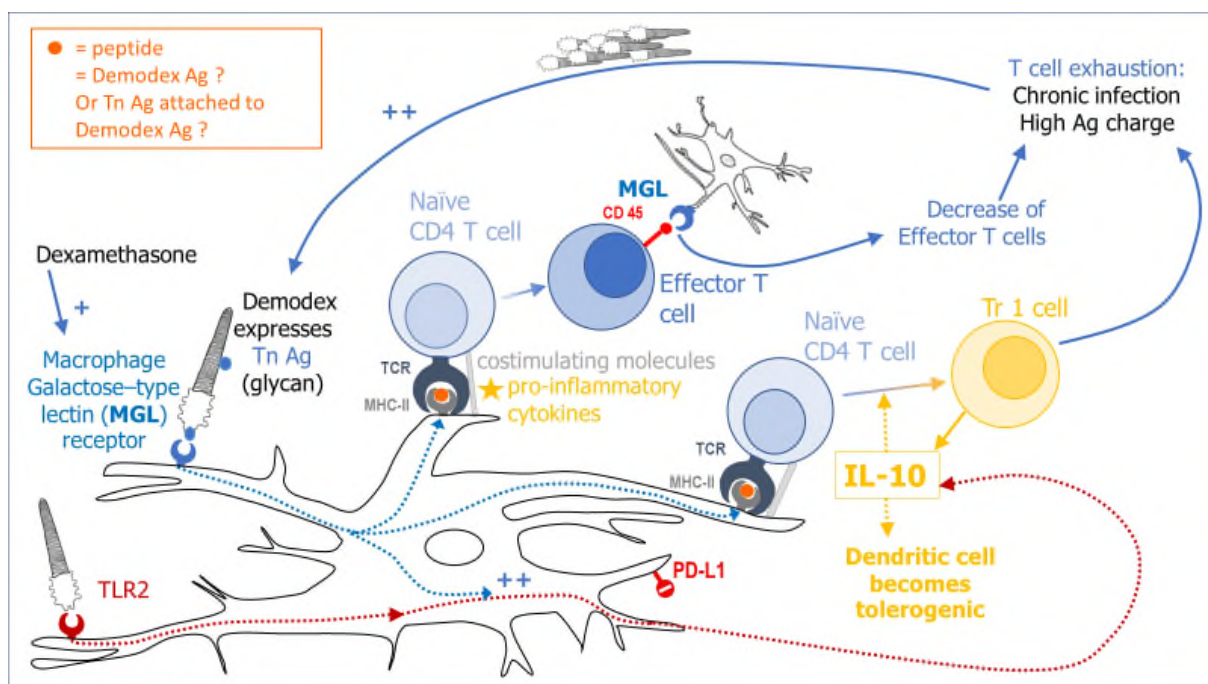


Fig. 92. Représentation schématique d'un mécanisme par lequel le Demodex pourrait induire l'immunotolérance nécessaire à sa survie : il pourrait induire la transformation toléro-gène de la cellule dendritique (DC) **via son antigène Thomsen-nouveau** (Tn Ag) (rond bleu), car cette propriété de l'Ag Tn a été démontrée en immunologie.

Les études immunologiques ont montré que l'Ag Tn est reconnu par le récepteur Lectine de type Galactose (MGL) de la cellule dendritique (DC), qui, à son contact, se

transforme en DC tolérogène,⁵⁷⁸ migre vers le ganglion lymphatique drainant et initie l'immunité adaptative :⁵⁸⁰ **elle interagit avec les lymphocytes T naïfs pour induire une immunotolérance.** Pour ce faire, elle produit différentes cytokines qui influencent différemment le lymphocyte naïf lors de la présentation de l'Ag. La DC présente un Ag peptidique (rond orange), via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) type II, au récepteur du lymphocyte T (TCR), et produit aussi des molécules de co-stimulation ainsi que :

- des **cytokines pro-inflammatoires** (étoile jaune); dans ce cas, le lymphocyte T naïf se transforme en lymphocyte T effecteur exprimant la molécule CD45, qui, par l'intermédiaire de sa molécule CD45, va interagir à son tour avec le récepteur MGL de la cellule dendritique.⁵⁸² Cette nouvelle synapse induit **une diminution de ses fonctions** : diminution de la prolifération du lymphocyte T, réduction de la production de cytokines inflammatoires et augmentation de l'apoptose.⁵⁸²

- de **l'interleukine-10** (IL-10) ; dans ce cas, le lymphocyte T naïf se transforme en **lymphocyte Tr1** (= lymphocyte T qui n'exprime pas le FOXP3 comme les T regs mais qui a aussi une fonction immunosuppressive), qui produit à son tour de l'IL-10.⁵⁷⁸

L'IL-10 induit la transformation des DCs immatures en DCs tolérogènes⁵⁷⁸ et stimule l'expression de récepteurs inhibiteurs sur la DC (dont le PD-L1 (ligand of programmed death 1 = ligand de la mort programmée)).⁵⁸¹

La production d'IL-10 suite à la stimulation du TLR2 est fortement augmentée par la stimulation conjointe du récepteur MGL.⁵⁷⁹

L'Ag doit être de nature peptidique pour être présenté par le CMH : il doit donc s'agir d'un Ag peptidique du Demodex, éventuellement attaché à l'Ag Tn (de nature glucidique).

La **dexaméthasone** augmente l'expression du récepteur MGL sur les DCs ;⁵⁸⁰ or, une synthèse endogène anormale de glucocorticoïdes a été mise en évidence dans la RET.⁵⁷¹

5.2.1.1. A.4.b. Hypothèse n°2 : Le VEGF pourrait induire l'immunotolérance via les lymphocytes T effecteurs et les cellules dendritiques tolérogènes

Dans la peau, le VEGF est sécrété en abondance par les kératinocytes et les fibroblastes, suite à l'exposition aux UVBs,^{585,586} ainsi que, dans la rosacée, par les mastocytes (dont la dégranulation est stimulée lors de l'inflammation neurogène³⁹² et lors de la réaction inflammatoire immunogénique, via les LL-37).^{318,410} Ses propriétés pro-angiogéniques (favorisant la perméabilité vasculaire)³⁶⁰ et chimiotactiques (il attire les lymphocytes T)³⁶² sont bien connues pour contribuer au développement des phénomènes vasculaires de la rosacée.

En 2015, des propriétés immuno-modulatrices lui ont été découvertes en pathologie tumorale : **le VEGF favorise l'échappement des cellules tumorales** à la surveillance par le système immunitaire, via les récepteurs VEGF-R2 des lymphocytes T effecteurs (§ 7.3.2.).⁵⁸⁷ Il inhibe la maturation des cellules dendritiques, induit

l'accumulation de cellules immunosuppressives, telles que les cellules T régulatrices, et inhibe la migration des lymphocytes T vers la tumeur.^{587,588}

Contrairement aux tumeurs, le Demodex ne sécrète à priori pas de VEGF, mais par contre, il est très probable qu'il bénéficie de l'échappement immunitaire induit par le VEGF synthétisé à la fois dans les kératinocytes, les fibroblastes et les mastocytes. **Le VEGF collabore probablement avec les cellules dendritiques tolérogènes (induites entre autres par le Demodex) pour, via les lymphocytes T effecteurs, provoquer l'épuisement lymphocytaire et faciliter aussi ainsi la prolifération du parasite (Fig. 93), ce qui expliquerait pourquoi le « terrain vasculaire » semble favoriser la pullulation du Demodex (§ 4.2.6.).** Et ce, d'autant plus que les récepteurs VEGF-R2, qui interviennent dans le mécanisme décrit,⁵⁸⁷ se retrouvent sur les cellules infiltrantes (lymphocytes, macrophages, plasmocytes) en cas de rosacée,³⁶² et qu'une augmentation des lymphocytes T régulateurs a été observée dans la peau des patients avec RPP^{355,356} et des patients avec démodécie.²⁰² De plus, le Demodex en surnombre correspond parfaitement au stimulus-type du phénomène d'épuisement lymphocytaire : la charge antigénique abondante et chronique.

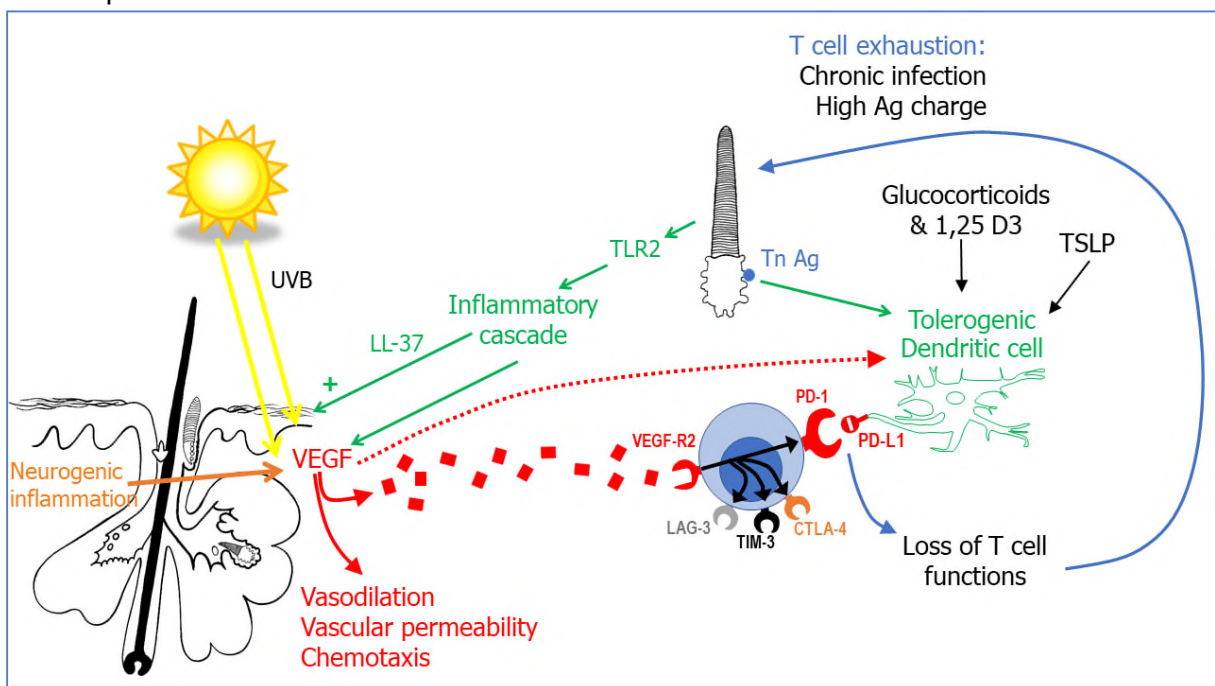


Fig. 93. Représentation schématique d'un mécanisme probable par lequel **le VEGF contribuerait à augmenter l'immunotolérance vis-à-vis du Demodex**, par analogie avec ce qui se passe en pathologie tumorale.⁵⁸⁷

Ce schéma rassemble des informations provenant de la pathologie tumorale, d'études sur le Demodex et la rosacée, et de l'hypothèse formulée dans la figure 92. **En pathologie tumorale**, on sait que les tumeurs sécrètent du VEGF, qui favorise leur développement grâce à ses propriétés pro-angiogéniques, mais aussi en favorisant l'épuisement des lymphocytes T effecteurs.^{587,588} Le VEGF se lie aux récepteurs VEGF-

R2 présents sur les lymphocytes T CD8⁺ effecteurs cytotoxiques (VEGF-R2);⁵⁸⁷ cela induit l'expression, à la surface du lymphocyte, de récepteurs/molécules de co-stimulation inhibitrices (dont le PD-1).⁵⁸⁷ Quand ceux-ci se lient à leurs ligands présents dans le microenvironnement tumoral (dont le PD-L1), cela provoque la perte de certaines fonctions de ces lymphocytes.⁵⁸⁷

Dans la peau, le VEGF est sécrété en abondance par les kératinocytes et les fibroblastes, suite aux expositions aux UVBs.^{585,586}

Dans la rosacée, le VEGF est augmenté dans le derme à la fois dans la RET et dans la RPP,³⁶⁰ en partie produit par les mastocytes stimulés par **l'inflammation neurogène**,³⁹² et par la **cascade inflammatoire**^{318,410} initiée par le Demodex stimulant le TLR2.⁸⁵ Cette cascade s'accompagne également de synthèse de vitamine D dans les kératinocytes et de production de cathélicidines LL-37,⁴⁰⁸ qui augmentent la sensibilité de la peau aux UVBs,^{411,412} amplifiant vraisemblablement la production de VEGF.

Le VEGF pourrait jouer le même rôle dans la rosacée qu'en pathologie tumorale et collaborer avec les DC tolérogènes pour induire l'épuisement des lymphocytes T. Le récepteur PD-1, induit à la surface des cellules T effectrices (par sa synapse avec le VEGF),^{587,588} se lierait au ligand PD-L1 exprimé à la surface des cellules dendritiques tolérogènes,⁵⁸¹ et cette synapse provoquerait à son tour la perte de fonction des lymphocytes T **avec accumulation de lymphocytes T régulateurs** traduisant **l'épuisement lymphocytaire**, comme dans le contexte tumoral. Cette immunotolérance induite en partie par le Demodex favoriserait sa pullulation et l'amplification du mécanisme.

Les DC tolérogènes semblent induites par plusieurs mécanismes : le Demodex,⁵⁸⁹ via son Ag Tn^{204,579-582,585} (Fig. 92), le VEGF,^{587,588} la TSLP plus élevée dans les régions riches en glandes sébacées,³⁵⁵ la vitamine D dont la seconde hydroxylation est stimulée par l'activation des TLR2 dans les kératinocytes⁴⁰⁵⁻⁴⁰⁷ (TLR2 stimulés eux-mêmes par le Demodex),⁸⁵ et/ou la synthèse endogène de cortisone observée dans la RET.⁵⁷¹ En effet, il faut noter que la vitamine D3, si elle favorise l'immunité innée (§ 1.4.8.2. A.), inhibe l'immunité adaptative : le traitement exogène à la Vit D3 favorise la transformation des DCs en DCs tolérogènes, et augmente l'expression du PD-L1 dans la DC, supprimant ainsi la prolifération des cellules T.⁵⁸¹ De plus, la combinaison de dexaméthasone et de vit D3 est puissamment inductrice de DC tolérogènes et d'anti-oxydants.⁵⁸¹

Abréviations : 1,25 D3, vitamine D ; CD8⁺, lymphocyte T cytotoxique ; CTLA-4, cytotoxic T lymphocyte antigen ; DC, cellule dendritique ; LAG-3, lymphocyte activation gene 3 ; LL-37, cathélicidine LL-37 ; PD-1, program cell death-1 ; TIM-3, T-cell immunoglobulin and mucin 3 domain ; TLR2, Toll-like récepteurs de type 2 ; TSLP, thymic stromal lymphopoietin ; UVB, lumière ultra-violette B ; VEGF, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ; VEGF-R2 : récepteur du VEGF type2.

En résumé, il est donc tout à fait probable que l'Ag Tn soit l'arme/une des armes du Demodex pour, via les cellules dendritiques, induire le microenvironnement immunosuppresseur nécessaire à sa survie. D'un autre

côté, il induit une réaction immunitaire immunogénique « saine » visant à l'éliminer, mais qu'il détourne probablement ensuite en utilisant le VEGF à son profit via les cellules dendritiques tolérogènes qu'il a induites.

Il exploite ainsi vraisemblablement les mécanismes protecteurs d'immunotolérance de l'hôte à son profit, et provoque un « épuisement lymphocytaire des cellules T » (CD8⁺ effecteurs et/ou CD4⁺ helper), comme cela semble se passer chez le chien (§ 1.2.4.).⁹³ Nos hypothèses placent ainsi **la cellule dendritique au cœur de la physiopathologie de la rosacée**, et pourraient expliquer, par l'existence de différents types de cellules dendritiques (polymorphisme des gènes de la cellule dendritique), les différences de susceptibilités individuelles aux Ags, et donc l'influence **génétique**, à l'instar de ce qui se passe pour les maladies inflammatoires de l'intestin.⁴⁰⁰

La rosacée serait alors à considérer comme une infection chronique s'accompagnant d'épuisement lymphocytaire.⁵⁸⁹

5.2.1.1. B. Le Demodex est le principal facteur causal de la RPP

- **La rosacée atteint les zones où la densité en follicules pilosébacés est la plus grande,**^{574,590} et le Demodex n'est retrouvé, assez logiquement, que dans les zones riches en glandes sébacées,^{1,33,46,60} leur nombre augmentant avec la densité des glandes sébacées ;³⁴
- **La densité en Demodex est plus élevée** dans la rosacée que dans la peau saine : nous l'avons montré en 1993⁵¹ et ceci a été amplement confirmé depuis, par de multiples études dans différents pays et avec différentes méthodes d'analyse,^{51,206,213,223,224,240,342-346,537} dont deux méta-analyses,^{346,537} et cela a de nouveau été confirmé avec notre méthode améliorée utilisant 2 SSSBs successives;²¹² de plus, nous avons montré que ce n'était pas le cas pour les autres dermatoses faciales de notre étude;²¹²
- **Les RPPs avec une densité en Demodex normale sont exceptionnelles** (12,5%,¹²⁶16%,³⁴⁵ et 1,4% (3/215) en utilisant 2 SSSBs successives),²¹² **et correspondent vraisemblablement à des faux négatifs** (Fig. 88, § 4.2.3.) ;
- **La RET est probablement un terrain favorisant la prolifération des Demodex ;**⁵⁶⁵ ce pourraient être l'augmentation du VEGF³⁶⁰ ou/et des glucocorticoïdes endogènes⁵⁷¹ qui, via leurs propriétés immunosuppressives, favorisent la pullulation initiale des parasites, au cours du développement des RETs (§ 5.2.1.1. A.4.b.) ;⁵⁸⁹
- **La régulation à la hausse des récepteurs TLR2** dans la RPP, l'augmentation de l'expression de la cathélicidine LL-37 et de l'activité leucocytaire plaident en faveur du rôle potentiel de microorganismes dans la pathogenèse de la rosacée.³⁰⁹ En effet, les facteurs connus pour réguler à la hausse les récepteurs TLR2 sont les

microorganismes (PAMPs) et l'altération de la barrière cutanée (DAMPs). Or, le Demodex est le seul microorganisme qui se retrouve facilement et en abondance dans quasi toutes les RPPs, et qui, en plus, altère la barrière cutanée (§ 1.1.4.2. C., 3.1. et 3.9.). De plus, l'activation, par les Demodex, de la réaction immunitaire médiée par les TLR2 a été montrée in vitro ;⁸⁵

- **L'expression de la métalloprotéase matricielle (MMP)-9** dans les fibroblastes est augmentée lorsque *D folliculorum* est présent dans la biopsie de rosacée, et son degré de positivité est corrélé linéairement à la présence du parasite.²²⁰ Les MMP sont des enzymes créées par les cellules résidentes de l'épiderme et du derme, qui peuvent être activées par des processus infectieux, et activer des cellules inflammatoires, l'angiogenèse et la lyse du collagène dermique (trois aspects très importants dans la pathogenèse de la rosacée) ;²²⁰
- **Les effets bénéfiques des traitements acaricides topiques** sur les symptômes de RPP,^{290,562,563} même quand ces traitements sont potentiellement irritants (benzoate de benzyle),^{562,563} est un argument fort (§ 4.2.8.) : si la prolifération du Demodex n'était qu'un épiphénomène, aucune action ne devrait être observée sur les symptômes quand on élimine le parasite ;
- La RPP présente de nombreuses **similarités avec la démodécie canine**, à tous niveaux, et celle-ci est une maladie reconnue en médecine vétérinaire (§ 1.2.) ;^{71,205}
- **Le rôle du Demodex dans les démodécies humaines est accepté par les autorités dermatologiques** : or, si le parasite ne remplit pas les postulats de Koch en ce qui concerne la rosacée, il ne les remplit évidemment pas mieux en ce qui concerne les démodécies ; par conséquent, si son rôle est admis dans les démodécies, il devrait logiquement l'être alors aussi dans la rosacée... mais ce n'est pas le cas. Ce manque de cohérence illustre, de notre point de vue, l'attachement aux idées reçues contre tout raisonnement logique, et donc le climat passionnel qui a longtemps régné autour de la question.
- **La RPP et la démodécie pseudo-rosacée sont extrêmement similaires** (symptômes, Dd, traitement ; la RPP ayant même une Dd légèrement supérieure à la démodécie pseudo-rosacée dans notre cohorte)¹⁶¹ (ainsi que sont aussi similaires, plus globalement, les PPR-suggestive et les démodécies).^{212,564} Le raisonnement logique nous dicte alors que, si la démodécie est due au Demodex et que la RPP est un phénotype similaire de la même maladie, alors la RPP est aussi due au Demodex.

5.2.1.2. Sens de la relation causale ou Temporalité

Certains considèrent que la prolifération de Demodex est un épiphénomène,⁷³ ou une conséquence de la RPP, et suggèrent que la réaction inflammatoire de la RPP pourrait induire la prolifération Demodex.^{73,225,420,423,424} L'éditorial de Thyssen,⁷³ commentant notre article dans le BJD en est un bon exemple (§ 7.6.1.3. A.). En effet, il

suggère que l'inflammation pourrait être primaire et responsable de l'altération de la barrière cutanée, ce qui, secondairement, favoriserait la pullulation des parasites, à l'instar de la dermatite atopique qui se surinfecte par le staphylocoque doré.⁷³

Si nous analysons à différents niveaux cette objection, nous constatons que cette hypothèse n'est pas plausible. En effet :

5.2.1.2. A. Au niveau moléculaire :

Yamasaki *et al* suggèrent que la rosacée est, à l'origine, une maladie du système immunitaire (§ 1.4.8.2. A. et 3.9, Fig. 61) : les changements immunologiques observés (LL-37), survenant en un premier temps, pourraient donc **favoriser la prolifération de Demodex en un second temps**. Dans ce cas, nous devrions observer : (1) une Dd plus élevée lorsque les symptômes inflammatoires sont intenses (plus il y a d'inflammation, plus il devrait y avoir de Demodex « secondairement ») ; (2) un grand nombre de patients atteints de RPP sans densité élevée en Demodex, (3) dont certains développeraient un pityriasis folliculorum secondairement.

Or, la réalité nous montre exactement le contraire : (1) la Dd est tout aussi, si pas plus, élevée quand les symptômes cliniques sont les plus discrets (en cas de pityriasis folliculorum) (Tableaux 13 et 14),^{126,212,561} et, chez les patients atteints de rosacée, la Dd est inversement liée aux marqueurs locaux de l'inflammation (dans la peau)²¹³ et n'est pas associée aux marqueurs généraux de l'inflammation (dans le sérum).²⁴⁰ Ces observations sont probablement à mettre en relation avec **l'action immunosuppressive des parasites** (permettant une haute Dd sans grosse inflammation); (2) presque toutes les RPPs ont une Dd élevée (84%,³⁴⁵ 88%,¹²⁶ 99%)²¹² ; (3) et les patients avec pityriasis folliculorum (sans inflammation importante) sont plus fréquemment rencontrés que les patients avec RPP,^{126,212} certains d'entre eux seulement développeront secondairement une RPP.

De plus, la stimulation de l'immunité innée par le Demodex a maintenant été démontrée *in vitro*.⁸⁵

5.2.1.2. B. Au niveau histologique :

La densité en Demodex élevée pourrait-elle être un épiphénomène **secondaire à l'infiltrat périfolliculaire ou à l'altération de la barrière épidermique ?**

Cette hypothèse, encore émise récemment par Thyssen⁷³ (§ 7.6.1.3. A.) ne tient pas, car, contrairement au staphylocoque doré, le Demodex n'a pas besoin d'une altération de la barrière ni pour s'implanter, ni pour proliférer : il est présent chez tous les individus et peut proliférer grandement alors qu'il n'y a pas d'inflammation (dans le pityriasis folliculorum). De plus, l'anatomie du parasite, ainsi que les images histologiques, montrent à l'évidence que **le Demodex crée la brèche**, et peut même traverser activement la paroi folliculaire, et pénétrer dans le derme (§ 3.1.).

De plus, compte tenu des relations habituelles hôte-microorganisme en médecine, et compte tenu de la logique, la probabilité que le Demodex induise l'inflammation périfolliculaire, juste à sa hauteur de surcroît,^{75,232,344,353} est bien plus élevée que l'inverse : pourquoi les acariens prolifèreraient-ils dans les follicules enflammés, juste en face d'un infiltrat intradermique ??

5.2.1.2. C. Au niveau clinique :

Certains experts suggèrent que ce n'est pas l'acarien qui cause les lésions inflammatoires de la rosacée, mais que sa prolifération en est la conséquence car le parasite peut **proliférer énormément sans provoquer de symptômes.**^{40,344}

Tout d'abord, s'il est vrai que le parasite peut être présent en très grand nombre sans déclencher de symptômes importants (dans le pityriasis folliculorum), cela ne veut pas dire qu'il n'y a pas de symptôme du tout : les écailles folliculaires peuvent être très discrètes et passer inaperçues si le dermatologue n'a pas appris à les détecter^{109,589} (§ 1.3.1.1., 1.5.). La peau est « discrètement malade ».

De plus, si, dans le pityriasis folliculorum, les réactions inflammatoires ne sont pas importantes, c'est probablement à cause de l'**immunodépression que le parasite exerce sur l'immunité locale** (§ 3.12., 5.2.1.1. A.4.).

En outre, si la prolifération des acariens était une conséquence des lésions cliniques, le Demodex devrait logiquement proliférer dans d'autres affections cutanées faciales hyperkératosiques et inflammatoires (comme le lupus érythémateux et l'ulérythème ophryogène), ce qui ne semble pas être le cas (§ 3.2.2. et 4.2.2.).^{211,212,227,356,441,536,547}

5.2.1.2. D. Au niveau thérapeutique :

Si le Demodex n'est pas la cause de l'inflammation, comment expliquer la guérison clinique de la rosacée par des traitements purement acaricides (§ 4.2.8.), concomitamment à une diminution de la densité en Demodex ? Comme énoncé plus haut (au § 5.2.1.1. B.), **si la prolifération de D était secondaire, le fait de les éliminer n'aurait aucune conséquence sur les symptômes de la maladie.**

Bref, ces quatre niveaux d'analyse soutiennent fortement la thèse que la RPP est bien causée par la prolifération en Demodex et non le contraire : (A) la densité en parasites tout aussi haute dans une affection plus discrète et plus fréquente (le Pityriasis folliculorum) qui en est probablement le précurseur, (B) la réaction périfolliculaire et granulomateuse ainsi que la brèche créée par l'acarien, qui sont des conséquences de sa présence, (C) l'effet immunodépressif du Demodex sur l'immunité locale, ainsi que l'absence de prolifération du Demodex dans les autres dermatoses inflammatoires, et (D) l'action des traitements acaricides sur les lésions cliniques.

5.2.1.3. Rôle causal du Demodex dans la rosacée oculaire

L'atteinte oculaire de la rosacée (Tableau 3) est cliniquement semblable à la démodécie oculaire (§ 1.3.1.3.) et est, à priori, difficilement reliable aux symptômes purement vasculaires de la rosacée. Par contre, la prolifération excessive du Demodex dans les follicules des cils et à l'intérieur des glandes de Meibomius pourrait être responsable à la fois **d'une réaction immunologique**^{183,591,592} (comme au niveau de la peau du visage, et provoquer des granulomes à corps étranger se traduisant cliniquement par des chalazions⁵⁹³) et également du **dysfonctionnement des glandes de Meibomius** observé au niveau oculaire (via un phénomène d'obstruction mécanique et/ou d'irritation mécanique et/ou chimique de la glande via ses lipases et protéases) (Fig. 94).^{164,331,332,594} En effet :

- (1) des Demodex sont systématiquement retrouvés dans les biopsies au cas de dysfonction meibomiale;⁵⁹⁴
- (2) et inversement, quand des Demodex sont retrouvés dans des prélèvements de cils, il y a une blépharite dans 83% des cas ;⁵⁹⁵
- (3) la densité de Demodex dans les cils est corrélée au nombre de symptômes observés,⁴² et au degré d'inconfort oculaire ;⁴³
- (4) sa prolifération est associée à une modification des taux de cytokines lacrymales (en particulier de l'IL-17), qui provoquent une inflammation du bord des paupières et de la surface oculaire ;¹⁸³
- (5) après un traitement acaricide (onguent d'oxyde de mercure à 2 %, ¹⁶⁹ composé soufré,¹⁸⁴ huile d'arbre à thé^{43,164,165,296} ou ivermectine per os²⁹⁴), les densités en Demodex diminuent dans les cils, concomitamment avec une amélioration clinique substantielle^{43,164,165,169,184,294,296} et une diminution de l'instabilité du film lacrymal;²⁹⁴ de plus, la concentration de deux interleukines (IL-1 β et IL-17) dans les larmes est considérablement réduite suite au traitement au TTO.¹⁶⁵

Dans certains cas, suite à la sécheresse oculaire induite par la dysfonction meibomiale (Fig. 94), une hypersécrétion compensatoire des glandes lacrymales peut se produire, expliquant le **larmolement paradoxal** observé chez certains patients (§ 1.4.3.2. Fig. 50 (b et c)).^{42,309}

A l'instar de la dysfonction meibomiale, une **dysfonction sébacée** induite par la surpopulation de Demodex pourrait très bien expliquer la quantité plus faible de sébum observée sur la peau des patients atteints de rosacée (RET,²⁴⁵ RPP²⁰⁶), plutôt que d'être le facteur qui favorise la pullulation des parasites (§ 1.3.4.).

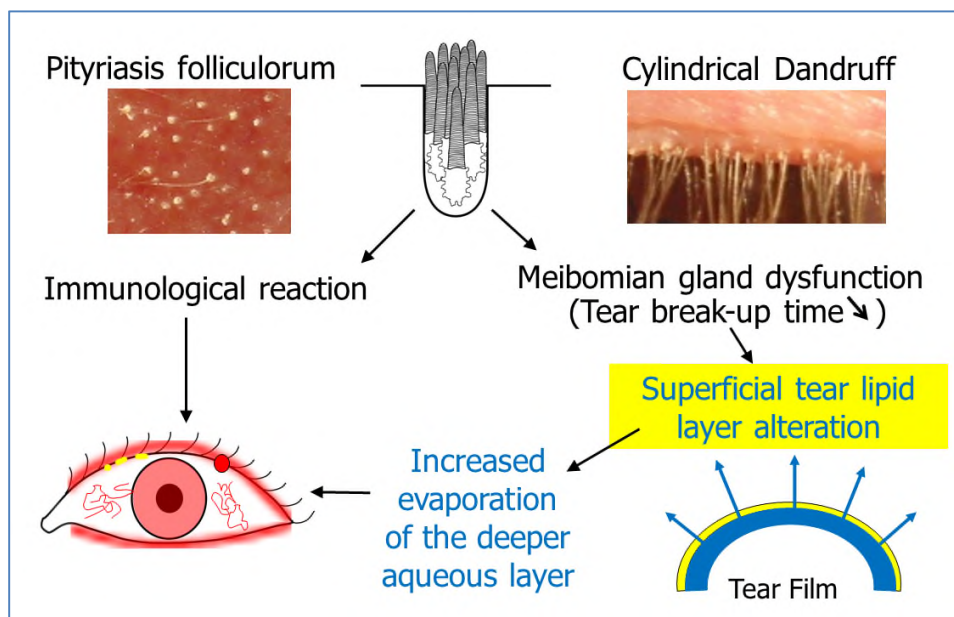


Fig. 94. Représentation schématique des mécanismes vraisemblables pouvant expliquer le rôle du **Demodex** dans la rosacée oculaire. La prolifération excessive du Demodex dans

les follicules des cils et à l'intérieur des glandes de Meibomius pourrait être responsable à la fois **d'une réaction immunologique**^{183,591,592} et également du **dysfonctionnement des glandes de Meibomius**, avec modification secondaire de la composition des lipides de la phase superficielle du film lacrymal.^{74,332,596} Ce film lipidique superficiel devient instable et permet ainsi une plus grande évaporation du film mucino-aqueux, plus profond, du film lacrymal,^{42,596} et les cytokines inflammatoires y deviennent donc plus concentrées.^{592,597} Le film lacrymal est ainsi altéré quantitativement et qualitativement, ce qui entraîne une altération secondaire de la surface oculaire et les symptômes oculaires observés dans la rosacée.⁵⁹⁶

5.2.1.4. Le Demodex et les principes d'attribution d'une cause à une maladie

5.2.1.4. A. Le Demodex et les critères de Koch

Le Demodex ne remplit absolument pas les postulats de Koch (§ 1.4.8.4. B.).

Cependant, si ces premiers postulats de Koch sont devenus la référence classique, historique, en médecine, ils sont néanmoins devenus obsolètes au fil du temps, car la causalité de nombreux agents infectieux a été validée sans que ces critères aient été entièrement remplis, et ce, parfois déjà par Koch lui-même.^{154,427} Ainsi :

- La seconde partie du premier postulat (le micro-organisme doit être absent des organismes sains) a finalement été rejetée par Koch à la suite de la découverte de porteurs asymptomatiques du choléra ;
- Beaucoup de germes ne peuvent pas se cultiver en milieu de culture pur, sans cellules (critère 2), et donc ne peuvent satisfaire aux trois derniers critères : le *Plasmodium falciparum* (agent du paludisme), le *Mycobacterium leprae* (agent de la lèpre), les virus (*Herpes Simplex virus* et autres...), ...

- Les deux derniers postulats sont impossibles à remplir pour des maladies infectieuses qui s'avèrent strictement humaines, et donc non reproductibles chez l'animal : le *Vibrio cholerae* (agent du choléra), ...⁴²⁷

Ainsi, déjà à son époque, Koch déclare que « si l'occurrence régulière et exclusive d'un parasite est démontrée, la relation causale entre parasite et maladie est validée ». ⁴²⁷ Les données acquises depuis lors nous ont montré qu'un germe peut occasionner une maladie variable selon les individus et les circonstances, et donc que, finalement, **le seul critère toujours satisfaisant reste la première partie du premier critère** (le micro-organisme doit être présent en abondance dans tous les organismes souffrant de la maladie). C'est dire que l'agent causal n'est **pas suffisant** pour produire la maladie, mais il reste la cause **nécessaire**. Il y a une cause discriminante et nécessaire, et des **cofacteurs favorisants** (hérédité, alimentation, climat, environnement...).⁴²⁷ L'hypothèse d'un **réseau causal en toile d'araignée ou web** remplace l'idée d'une cause unique et universelle.⁵⁹⁸ **C'est l'absence de l'agent causal qui implique, dans tous les cas, l'absence de la maladie** : pas de tuberculose sans bacille de Koch, pas de choléra sans vibrion cholérique.⁵⁹⁸

Le rôle du Demodex dans la rosacée est une parfaite illustration de ce principe puisque, d'une part, il est présent dans la peau de tout adulte, mais il ne prolifère exagérément que chez certains individus, lorsque les circonstances favorables le permettent : **la cause déterminante est le Demodex (sans lui, pas de rosacée)**, mais il ne suffit pas, il lui faut

des co-facteurs tels que la rosacée érythématotélangiectasique/le VEGF, l'immunosuppression (spécifique ou non), l'hyperplasie sébacée, etc. Dans ces circonstances, il se multiplie exagérément et devient alors pathogène : en général, il se manifeste d'abord discrètement par le pityriasis folliculorum et, ensuite, à la faveur d'un stimulus supplémentaire (tel que la pénétration de l'un d'eux dans le derme ?) ou à la faveur de l'**épuisement lymphocytaire** qu'il provoque vraisemblablement, il y a accumulation de cellules inaptes (§ 5.2.1.1. A.4.), se traduisant par une réaction immunitaire peu efficace, mais visible cliniquement.

En effet, sa prolifération est observée **chez quasi tous les patients** atteints de rosacée, les rares cas de RPP et de démodécie avec densité en Demodex normale correspondant probablement à des faux négatifs (dans notre dernière étude : 2,4 % des PPR-suggestive, 1,4 % des RPPs typiques et 0,8% des démodécies) (§ 4.2.3.3.).²¹² L'observation, dans notre étude, d'une densité en Demodex plus faible en cas de grosses papulopustules profondes qu'en cas de petites superficielles, quoique statistiquement non significative,¹⁶¹ plaide également en ce sens : il est logique de penser que plus les Demodex sont profonds, moins ils sont détectés,⁴⁹ et plus l'inflammation qu'ils déclenchent est profondément située et donc la taille des

papules, importante. Ce que semble également corroborer l'observation de Liang *et al* au niveau oculaire : chez les patients atteints de chalazion, la prévalence de *D. brevis* était supérieure à celle de *D. folliculorum* (et la prévalence et la densité en *D. brevis* étaient supérieures à celles de patients sans chalazion).¹⁸⁶ Notons cependant que, dans notre étude, la plupart des acariens observés dans les cils épilés étaient *D. folliculorum*,⁵⁶⁴ comme dans la plupart des autres études,^{163,169,599} et ce y compris parmi nos 18 patients atteints de chalazion.⁵⁶⁴

L'hypothèse alternative serait que, dans ces rares cas, la RPP soit due à un autre facteur causal : ce qui voudrait dire que, dans de rares cas, un des facteurs considérés habituellement comme déclenchants, serait alors capable de provoquer des papules et des pustules, en l'absence de prolifération ou de pénétration intradermique du parasite. Cette hypothèse nous paraît peu probable, et demanderait des études expérimentales cliniques interventionnelles pour être prouvée, par exemple sur peaux préalablement débarrassées de tout parasite...pour autant que ces études soient acceptées du point de vue éthique.

Par ailleurs, **la disparition du parasite est associée à la disparition des symptômes.** Ceci avait déjà été observé dans les blépharites à Demodex (avec le TTO^{43,164,165,296} et d'autres traitements)^{169,184,294} et dans la RPP avec l'ivermectine ;²⁹⁰ nous l'avons confirmé dans la RPP avec le benzoate de benzyle.^{562,563} Comme cette molécule n'a, contrairement à l'ivermectine, aucune propriété anti-inflammatoire connue et est même potentiellement irritante, l'observation n'en apporte que plus de poids du point de vue théorique : le seul fait de tuer les parasites guérit la maladie cliniquement, ce qui vient confirmer indirectement le rôle du parasite dans le développement de la rosacée et des démodécies (§ 4.2.8.). Mais bien sûr, cette observation devrait être confirmée par des études contrôlées versus placebo ou autre.

Par contre, les trois autres critères de Koch, qui sont devenus obsolètes, ne seront probablement jamais remplis par le Demodex (§ 1.4.8.4. B.).

Remarquons cependant le **rôle causal reconnu du Demodex en médecine vétérinaire** (§ 1.2.) et les nombreuses similarités entre la démodécie canine et la RPP tant du point de vue clinique, histologique, que physiopathologique :^{71,205} le rôle pathogène du parasite est lié dans les deux cas à sa prolifération et au terrain la favorisant, ainsi qu'aux réactions immunitaires opposées qu'il induit (à la fois tolérogène et immunogène). De plus, bien que la maladie n'a pas été provoquée par inoculation, **la réaction immunitaire a pu être provoquée in vitro.**⁸⁵

Ainsi, selon les critères de Koch « actualisés », le Demodex pourrait très bien être reconnu comme agent causal de la RPP.

Au vu des limitations des critères de Koch, et du développement de la technologie, d'autres systèmes de critères ont été proposés selon les différentes approches (virologiques, immunologiques, moléculaires).⁴²⁷ Nous avons consulté deux de ces systèmes dans la cadre du Demodex et de la rosacée, à l'instar de Chen et Plewig.¹⁰⁷

5.2.1.4. B. Le Demodex et les critères de Hill pour la causalité

Les critères de Bradford Hill, ou de critères de Hill pour la causalité,^{600,601} ont été établis par l'épidémiologiste anglais Sir Bradford Hill (1897-1991) en 1965 dans le cadre de la controverse sur la fumée du tabac comme source de cancer du poumon, et sont toujours largement acceptés actuellement en épidémiologie.⁶⁰² Son but était plus de fournir une **aide à la réflexion**, permettant d'établir si une hypothèse est plutôt raisonnable, que de fournir une liste de critères à cocher pour attribuer, ou non, un lien de causalité à des événements.⁶⁰²

Parmi les 9 critères, seuls 5 sont généralement considérés comme forts mais aucun n'est suffisant que ce soit individuellement ou en association (Tableau 18).⁶⁰¹

Seule la temporalité de l'association est nécessaire à la causalité.^{600,601}

Nous voyons que **le Demodex remplit globalement beaucoup de ces critères** : dans le Tableau 17, nous avons indiqué pourquoi, à notre avis, le Demodex répond aux différents critères, et, en rouge, quelles seraient les études qui seraient bienvenues pour conforter les données que nous avons déjà. Entre parenthèses, sont indiqués les paragraphes de notre thèse où les données citées sont détaillées.

Chen et Plewig pensent que l'association est faible parce que la prévalence du parasite est de 100%, alors que celle de la RPP est seulement de 3% dans la population.¹⁰⁷ Cependant, l'association à considérer avec la survenue de RPP, n'est pas la prévalence du parasite, car sa simple présence n'est pas pathologique, mais bien la prévalence de sa haute densité, qui est, elle, pathologique. Et, dans ce cas, **l'association entre la prolifération de Demodex et la survenue de la rosacée est forte** dans notre étude (Tableau 19) et dans les études épidémiologiques : il faudrait 18.456 articles montrant une absence de relation pour renverser la conclusion de la méta-analyse de Zhao.³⁴⁶

Le gradient biologique est en fait le seul critère qui n'est absolument pas rempli car la densité n'est pas plus élevée dans la rosacée (où les symptômes sont plus intenses) que dans le pityriasis folliculorum (où les symptômes sont très discrets) (§ 3.6. et 4.2.2.). Ceci s'explique aisément par l'environnement immunosuppresseur (induit par le Demodex ou/et par un autre facteur co-existant (tel que le VEGF))^{85,202,264,589} (§ 5.2.1.1. A.4.) qui empêche justement la réaction immunitaire de l'hôte, et donc diminue les symptômes.

Tableau 18. Critères de Hill appliqués à la causalité du Demodex dans la rosacée

CRITÈRES	EXPLICATION	Demodex et RPP
Force de l'association*	Les associations fortes dans les études épidémiologiques sont plus probablement causales (risque relatif et odds ratio)	OUI : association forte, dans une multitude d'études et dans deux méta-analyses, entre haute Dd et RPP (§ 5.2.1.1.B., Tableau 18)
Constance Reproductibilité de l'association*	Des résultats semblables dans plusieurs études : critère d'autant plus fort que ces études ont été réalisées dans des populations/contextes différents	OUI : l'association a été prouvée par différentes méthodes de prélèvement et dans différents pays (§ 5.2.1.1.B.)
Spécificité de l'association	Si une association est grandement augmentée dans un groupe précis exposé à une intervention, la justification de la causalité est renforcée	OUI : association de haute Dd avec démodécies & PPR-suggestives (dont RPP), et non avec autres dermatoses faciales (§ 3.2.2., 3.2.3., 4.2.2, 4.2.3.)
Temporalité	Un critère nécessaire : l'exposition doit précéder le résultat	OUI : Démodécies Subcliniques dans RET → PF → RPP (§ 4.2.6., 5.2.1.2.) → études cliniques longitudinales
Gradient biologique* = relation dose-effet	Une association causale est plus probable si une réponse en fonction de la dose est démontrable	NON, MAIS : environnement/effet immunosuppresseur du parasite OUI pour l'expression de la MMP-9 des fibroblastes (§ 3.9., 3.12., 4.2.6., 5.2.1.1. A.4., 5.2.1.1.B.) → profil immunologique de RET, PF et RPP
Plausibilité*	Compatible avec les connaissances actuelles. Ce n'est pas toujours un critère nécessaire, parce que ces connaissances peuvent être nouvelles	OUI : les données sont totalement compatibles, seul le point de vue est différent (§ 1., 5.2.1.5., 5.2.2., 7.4.)
Cohérence*	Les résultats observés devraient être congruents avec d'autres caractéristiques connues de la biologie ou de l'évolution naturelle de la maladie	OUI : la prolifération en Demodex, comme l'inflammation sont présents depuis le début de la maladie dont l'évolution naturelle est chronique (§ 1.4., 4.2.6., 5.2.1.5., 5.2.2.)
Expérimentation	Il arrive à l'occasion que la causalité puisse être démontrée par une intervention contrôlée dans une étude clinique	OUI : guérison clinique obtenue en éliminant les Demodex par traitement acaricide pur au benzoate de benzyle (et crotamiton) (§ 4.2.8.) → études cliniques contrôlées
Analogie	Probablement l'argument le plus faible pour établir une association	OUI : nombreuses similarités avec la démodécie canine (§ 1.2.)
*: les 5 critères considérés comme forts.		
Abréviations : Dd: densité en Demodex; PF: Pityriasis folliculorum; MMP: métalloprotéase matricielle; PPR-suggestive: B6:D16papulopustules centrofaciales suggérant le diagnostic de rosacée; RET: rosacée érythématotélangiectasique; RPP: rosacée papulopustuleuse.		

Tableau adapté depuis Bosomworth J. Obstacles aux interventions cliniques liées à l'activité physique dans le traitement des maladies cardiométaboliques. Canadian Family Physician 2019 ; 65: e79-86.¹⁴³

Tableau 19. Risque relatif et rapport de cotes pour les RPPs avec érythème persistant (n=215) par rapport au groupe Demodex- (n= 200 : 20 contrôles sains et 180 patients atteints d'autres dermatoses faciales), sur base de nos résultats et avec notre critère diagnostique. Ils illustrent la **forte association entre la RPP et la haute densité en Demodex** (Dd).

Patients	avec haute Dd	avec basse Dd	Total
Patients avec RPP typique = 215	212	3	215
Contrôles sans RPP = Demodex- = 200	9	191	200
Total	221	194	
Risque des RPP d'avoir une haute Dd:	$212/215 = 0.99 = R1$	99% des RPP ont une haute Dd	
Risque des contrôles d'avoir une haute Dd:	$9/200 = 0.045 = R0$	5% des contrôles ont une haute Dd	
Risque relatif : R1/R0	$0.99/0.045 = 22$	Les patients avec RPP ont 22x plus de risques d'avoir une haute Dd que les patients contrôles sans RPP	
Cote de la haute Dd parmi les RPP	$212/3 = 70.666 = C1$		
Cote de la haute Dd parmi les contrôles	$9/191 = 0.0471 = C0$		
Rapport de cotes (odds ratio): C1/C0	$70.666/0.0471 = 1507$		

5.2.1.4. C. Le Demodex et le modèle de Rothman

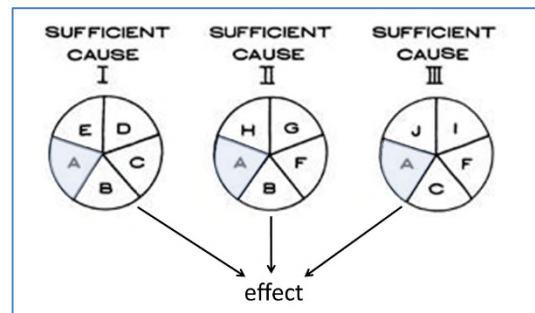
En 1976, Kenneth Rothman propose un modèle de réflexion centré sur la **pluri-causalité des maladies chroniques, sur base des notions de causes suffisantes et nécessaires** : un effet y est causé par plusieurs ensembles de causes suffisantes.^{603,604} **Chaque ensemble est à lui seul suffisant pour provoquer l'effet**, rendant l'effet inévitable. Cependant, entre le moment où un des composants survient et celui où les autres composants complémentaires viennent compléter progressivement le premier composant pour que l'ensemble de la cause soit au complet, suffisant, beaucoup de **temps** peut s'écouler, le sujet pouvant même mourir avant que l'effet ne puisse devenir manifeste ; de plus, la disparition d'un des composants de l'ensemble rend à nouveau cet ensemble insuffisant. Si une composante isolée se retrouve dans tous les ensembles causaux suffisants, elle est une **cause nécessaire** (Fig. 95 a).^{603,604}

La prolifération de Demodex est vraisemblablement une **cause nécessaire**, car elle est observée chez presque tous les sujets atteints de RPP (faux négatifs probables chez les autres) : le Demodex est présent dans chacun des différents ensembles de causes suffisantes, associé à des cofacteurs, dont ceux qui favorisent sa prolifération et le type de réaction immunitaire dominante (§ 5.2.1.5.). Mais la prolifération de Demodex à elle seule ne semble a priori **pas suffisante** pour induire la RPP, car elle est observée aussi dans d'autres conditions, comme la démodicie subclinique, la RET (selon la définition actuelle), le pityriasis folliculorum et les autres démodicies. Néanmoins, il est probable que, avec le **temps**, la démodicie subclinique devienne clinique (Fig. 1 de l'article § 4.2.5.), et que le pityriasis folliculorum ainsi que la RET deviennent une RPP. Ce temps pourrait être si long chez certains que le RPP ne se

manifeste pas avant la mort, ou guérit parce qu'un facteur associé de l'ensemble (co-facteur) disparaît.

Fig. 95. Causes suffisantes et nécessaires.

(a) Modèle de Rothman ;⁶⁰³ Figure modifiée depuis « Rothman KJ. Causes. Am J Epidemiol 1976; 104: 587–592 ».



(b) Echelle d'attribution d'une cause à une maladie,¹⁰⁷ avec 4 possibilités de force de causalité, proposée par Chen et Plewig,

inspirée des notions de cause suffisante (quand la cause est là, la maladie est inévitable) et nécessaire (la cause précède toujours la maladie) de Rothman,⁶⁰³ et appliquée à la causalité du Demodex dans la rosacée :

4 options :	→ always	----→ sometimes	D = Demodex proliferation	R= PPR	R= ETR	R C&P
I. Sufficient & necessary			D acting alone inevitably leads to R = "sufficient" D always precedes R = "necessary" D & R always present together	-	-	-
II. Not sufficient but necessary			D does not lead inevitably to R = "not sufficient" Other factors are necessary for R to become manifest Carriers of D can have clinically normal skin or R D always precedes R = "necessary"	+	-	-
III. Sufficient but not necessary			D acting alone inevitably leads to R = "sufficient" D does not always precedes R = "not necessary" R can occur in absence of D, as a result of other factors	-	-	±
IV. Not sufficient & not necessary			D does not lead inevitably to R = "not sufficient" Other factors are necessary for R to become manifest Carriers of D can have clinically normal skin or R D does not always precedes R = "not necessary" R can occur in absence of D, as a result of other factors	-	+	+

Les flèches pleines indiquent une relation obligatoire, les flèches en pointillés une relation possible. Dans les colonnes à droite, se retrouvent, les opinions : de gauche à droite, notre opinion concernant la RPP (=PPR) , puis concernant la RET (= ETR), et enfin, celle de Chen et Plewig (C&P) concernant toutes les rosacées confondues.¹⁰⁷ Signification des symboles : - = improbable ; ± = moins improbable ; + = le plus probable. Tableau modifié depuis « Chen WC, Plewig G. Are Demodex mites principal, conspirator, accomplice, witness or bystander in the cause of rosacea ? Am J Clin Dermatol 2015; 16: 67–72 ».¹⁰⁷

A partir des notions de cause suffisante et nécessaire introduites par Rothman,⁶⁰³ Chen et Plewig ont proposé une échelle d'attribution d'une cause à une maladie avec **4 niveaux de force** de causalité, présentés en ordre décroissant (Fig. 95 b).¹⁰⁷ Ils ont suggéré que la relation entre Demodex et la rosacée se situait entre les 3ème et 4ème niveau,¹⁰⁷ envisageant vraisemblablement toutes les formes de rosacée confondues, car ils écrivent aussi dans leur article que « le Demodex peut être un composant partiel indispensable de certaines formes de rosacée, principalement la RPP ». Ainsi, il nous semble plus clair de séparer les formes de

rosacées, et de placer la relation au 2ème niveau pour la RPP et au 4ème niveau pour la RET (Fig. 95 b). En effet, certaines RET peuvent se développer au départ sans prolifération en parasites (§ 4.2.6. et 5.2.1.1. A.4.b.) ; notons cependant que cette donnée pourrait être modifiée dans l'avenir si une prolifération de Demodex était détectée dans toutes les RETs (plus en profondeur par exemple).

Ainsi, de façon compatible avec les principes actuels d'attribution d'une cause à une maladie, nos observations, ajoutées aux données la littérature, nous semblent actuellement suffisantes pour reconnaître le rôle pathogène du Demodex en médecine humaine et en particulier dans la rosacée, surtout papulopustuleuse.

5.2.1.5. Hypothèse physiopathogénique : Schéma « uniciste » et recentré

Pour rappel, à ce jour, les **schémas habituels** concernant la physiopathogénie de la rosacée considèrent la rosacée comme une **réaction inflammatoire/immunitaire pathologique**,³¹⁸ déclenchable par différents facteurs (§ 1.4.8. et 7.4.).^{56,112,225,420,423,424} Ce qui signifie que ces facteurs pourraient chacun provoquer des papulopustules (par exemple les UVs) sans prolifération excessive de Demodex. De plus, dans cette conception des choses, les patients avec papulopustules sans érythème permanent se retrouvent dans un no-mans land nosologique (§ 1.4.3.),^{107,321,340} et la frontière avec les démodécies est ambiguë et non justifiée (§ 1.5., 3.9., 4.2.5., 4.2.6.).^{161,589}

Nos études et notre analyse nous amènent à proposer un point de vue différent : nous proposons de considérer **la rosacée avec papulopustules comme une démodécie**, c'est-à-dire causée par une prolifération anormale de Demodex, elle-même favorisée par différents facteurs, dont certains liés aux phénomènes vasculaires de la rosacée, mais pas seulement. Nous proposons ainsi un schéma **physiopathogénique uniciste « décalé », centré sur le parasite** (Fig. 96), qui place les phénomènes vasculaires de la rosacée à la fois comme facteurs favorisants et comme conséquences de la prolifération des parasites.

Le VEGF y apparaît comme un « traître » de la réaction immunitaire défensive : libéré par les mastocytes qui relaient la réaction inflammatoire initiée par la stimulation du TLR2,⁴¹³ le VEGF, au lieu de contribuer à éliminer les parasites, induit l'immunotolérance, via sa collaboration avec les cellules dendritiques tolérogènes induites entre autres par le Demodex (§ 5.2.1.1. A.4.b.) et favorise ainsi, paradoxalement, leur prolifération.

Au cours de l'inflammation neurogène, la substance P, libérée par les terminaisons nerveuses, stimule également **la dégranulation des mastocytes**, libérant, entre autres, le VEGF⁶⁰⁵ (qui serait, de plus, particulièrement induit par la substance P).³⁹² Les facteurs déclenchants l'inflammation neurogène (UVs, épices,

chaleur, stress, exercice)^{357,361} pourraient donc eux aussi favoriser par ce biais la prolifération des Demodex,⁵⁸⁹ en plus de contribuer aux phénomènes vasculaires de la RET et d'amplifier la réaction inflammatoire immunogénique.⁴¹³ De façon cohérente avec nos observations et nos hypothèses,⁵⁸⁹ nous pensons que ces facteurs déclenchants de l'inflammation neurogène ne peuvent **pas induire les papulopustules** à eux seuls, sans qu'il y ait prolifération en parasites ; nous ne l'avons bien sûr aucunement prouvé (§ 5.2.1.4.A.).

Les mastocytes, stimulés à la fois par la réaction immunitaire défensive^{318,410} et l'inflammation neurogène, libèrent également d'autres facteurs, dont certains induisent la fibrose :³¹⁸ des enzymes (la tryptase [qui a des propriétés chimiotactiques et mitogènes sur les fibroblastes],³⁵⁷ des métalloprotéinases [qui participent au remodelage des tissus])²²⁰ et des cytokines (dont le facteur de croissance transformant bêta-1 (TGF-β1), augmenté dans le rhinophyma)²²⁸ (§ 1.4.8.2. D. et 5.2.1.1. B.). Ainsi, le **phyma** pourrait également rentrer dans ce cadre : l'hyperplasie conjonctive et glandulaire pourrait donc bien¹⁹⁸ résulter de l'inflammation chronique causée par les Demodex, via les mastocytes. Cette hypothèse serait confortée par l'observation d'une plus haute densité en Demodex au niveau du nez (*D brevis* ? *D folliculorum* forme courte ?) en cas de phyma, même non inflammatoire.

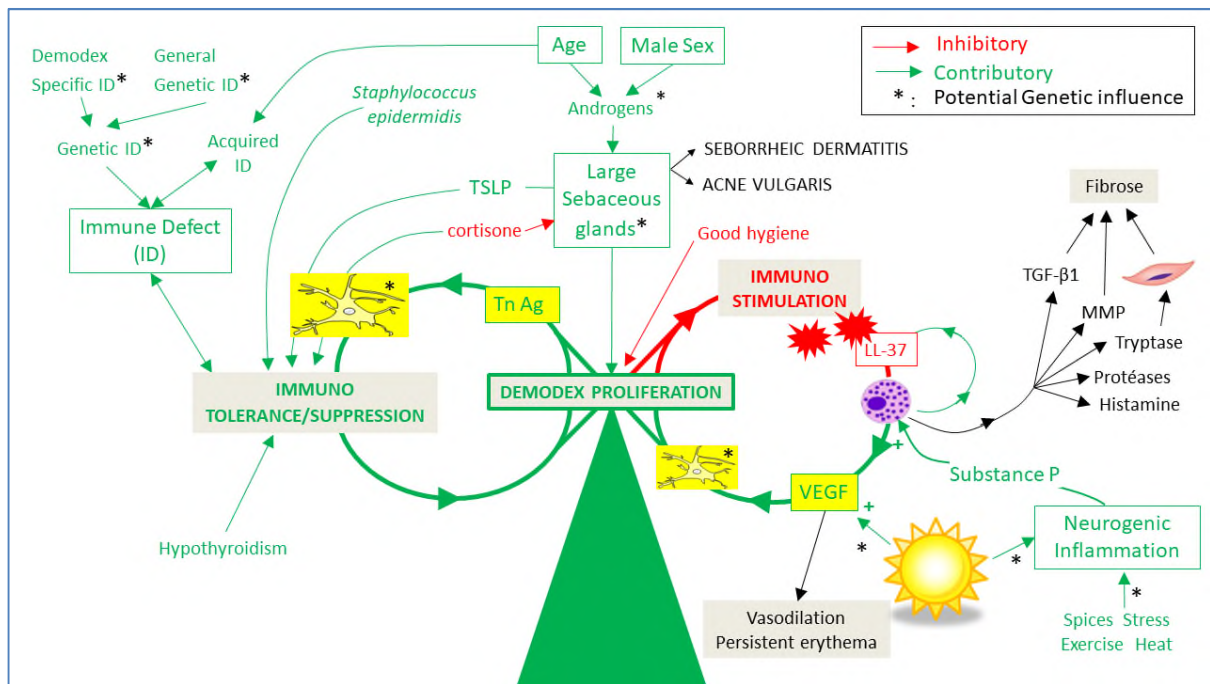


Fig. 96. Hypothèse physiopathogénique suivant laquelle la RPP est une infection chronique par le Demodex, avec réaction d'épuisement lymphocytaire.

Ce schéma est compatible avec les données et les autres schémas proposés dans la littérature (§ 7.4.), mais s'en distingue par 9 différences essentielles :

1. Il centre le réseau causal non pas sur la réaction inflammatoire, mais **sur le Demodex** qui, par les DAMPs libérés et ses propres PAMPs et Ags, déclenche les

cascades inflammatoires de l'immunité innée et acquise (symbolisées par les deux étoiles rouges) visant à l'éliminer. Ses Ags comprennent : (a) ceux susceptibles d'être plutôt **immunogènes** (ses bactéries endosymbiotiques [les *Corynebacterium kroppenstedtii* (§ 1.1.4.2. C.)], sa cuticule [protéique et polysaccharidique chitineuse], ses protéases, ...) et (b) son **Ag Tn** qui agit vraisemblablement plutôt comme une molécule de co-stimulation inhibitrice sur l'immunité (§ 5.2.1.1. A.4.a.) ;

2. Il propose ainsi cet **Ag Tn** du Demodex comme une arme pour induire l'immunotolérance des cellules dendritiques ;

3. Il apporte la notion d'**équilibre entre l'immunogénicité et l'immunotolérance** induite par le parasite (triangle/balance verte), qui va déterminer à tout moment le phénotype de la maladie démodécie/rosacée (§ 3.11.) ;

4. Il met en lumière le rôle probablement très important des **cellules dendritiques tolérogènes** dans la rosacée et leurs interactions avec les Demodex ;

5. Il tient compte des **propriétés immunosuppressives du VEGF**, qui font apparaître ce facteur comme **le traître** de la réaction immunitaire défensive ;

6. Les **facteurs déclenchants classiques de la rosacée** (UVs, épices, stress, exercice, chaleur, ...) connus pour déclencher l'inflammation neurogène,^{357,361} peuvent non seulement amplifier l'inflammation liée à la réaction immunitaire,⁴¹³ déclenchée par la prolifération du Demodex, mais pourraient donc aussi **potentiellement favoriser cette prolifération**, par le biais du VEGF⁵⁸⁹ libéré par les mastocytes.⁶⁰⁵ Mais ils ne peuvent pas, à priori, causer les papulopustules isolément, sans prolifération en parasites.

7. Il intègre les **facteurs favorisant sa prolifération**, principalement par le biais de l'induction d'une immunotolérance, comme la lymphopoïétine stromale thymique (thymic stromal lymphopoietin (**TSLP**)),³⁵⁵ le **Staphylocoque epidermidis** (§ 3.9., 1.4.8.3. et 4.2.7.) et le **VEGF**⁵⁸⁹ (dont n'étaient tenues en compte jusqu'à présent que les propriétés angiogéniques)(§ 1.4.4., 1.4.8., 4.2.6, 4.2.7, 5.2.1.1. A.4.b.) ; le/les facteurs favorisant initialement sa prolifération seront responsables du **phénotype initial** (avec ou sans érythème persistant) ;

8. Il intègre les dermatoses fréquemment associées à la rosacée et aux démodécies : la **dermatite séborrhéique et l'acné vulgaire** (§ 4.2.3.4.)^{,40,110,111,128,129,211,212,225,321,371,372,541,568}

9. Plusieurs **cercles vicieux** s'entremêlent, expliquant à la fois **la confluence des différents phénotypes initiaux et l'emballement** de la réaction inflammatoire, dont l'intervention des mastocytes qui relaient la réaction inflammatoire vers la fibrose (§ 1.4.8.2. D.)^{,318,413} tous les cercles vicieux ne sont représentés (ex : Demodex >TLR2⁸⁵ > **sensibilité aux UVs augmentée**^{411,412} > VEGF augmenté^{585,586} > immunotolérance augmentée^{587,588} > prolifération en Demodex facilitée⁵⁸⁹).

Ce schéma propose ainsi des liens cohérents entre le pityriasis folliculorum, la RET, la RPP et le Demodex. Il répond aux arguments des opposants au rôle du parasite, aide grandement à la compréhension et à la prise en charge de la maladie et simplifie sa nosologie.

La grosse différence entre la démodécie canine et la rosacée est en fait l'intervention de l'inflammation neurogène, qui n'est présente que chez l'homme. En effet, chez le chien, il n'est pas question de flushs (ni de ses facteurs déclenchants UVs, épices, ...). **L'inflammation neurogène ne serait in fine qu'un facteur favorisant la prolifération du parasite supplémentaire par rapport à ce qui existe chez le chien** : un mode d'entrée dans la maladie fréquent et propre à l'homme, qui a contribué à faire penser jusqu'ici que la rosacée et la démodécie étaient deux maladies différentes.

5.2.2. Nosologie

5.2.2.1. **La RET et le pityriasis folliculorum : différents mais connectés**

Personnellement, nous avons toujours fait la différence cliniquement, et conceptuellement, entre la RET, rosacée purement vasculaire, et le pityriasis folliculorum avec érythème. Mais, de fait, nous constatons que la plupart des dermatologues ne font pas cette différence (§ 1.5.).

D'autre part, nous remarquons **un paradoxe important au sein des directives officielles** : selon le consensus ROSCO (§ 1.4.3.3.), un diagnostic de rosacée (et donc aussi de rosacée vasculaire pure ou RET) devrait être posé après avoir exclu le diagnostic de démodécie,³⁴⁰ mais la NRS¹⁵² semble inclure le pityriasis folliculorum avec érythème, ou, du moins, ne prendre aucune précaution pour l'exclure (§ 1.5.). De plus, elle mentionne les collerettes à la base des cils comme signe secondaire oculaire de la rosacée (n'intervenant pas dans le diagnostic).³³⁹ Celles-ci correspondent vraisemblablement aux cylindres cornés¹⁶³ décrits dans la démodécie oculaire (§ 1.3.1.3.).

Or, si le pityriasis folliculorum et la RET sont souvent associés, ils ne le sont pas toujours (Tableau 16, Fig. 97). Il convient donc de les identifier clairement pour savoir de quoi on parle, et aussi pour éclairer les mécanismes physiopathogéniques :

- **il y a des pityriasis folliculorum sans érythème**, c'est-à-dire des démodécies qui ne sont pas initiées par le terrain hypervascularisé/l'augmentation du VEGF, mais bien par d'autres facteurs (hyperplasie sébacée, immuno-tolérances/dépressions) ;
- **et il y a (jusqu'à preuve du contraire en tout cas) des RETs sans prolifération de Demodex, provoquées par d'autres facteurs**. Une autre possibilité serait bien sûr que la surpopulation en Demodex soit déjà initiée, mais non détectée (par nos méthodes insuffisamment sensibles : peut-être commence-t-elle par une prolifération en *D brevis* ?).

Ces deux états « purs » (démodécie « pure » (sans érythème centro-facial persistant) et RET « pure » (sans prolifération de Demodex)) représentent vraisemblablement **deux modes d'entrée dans la maladie** :

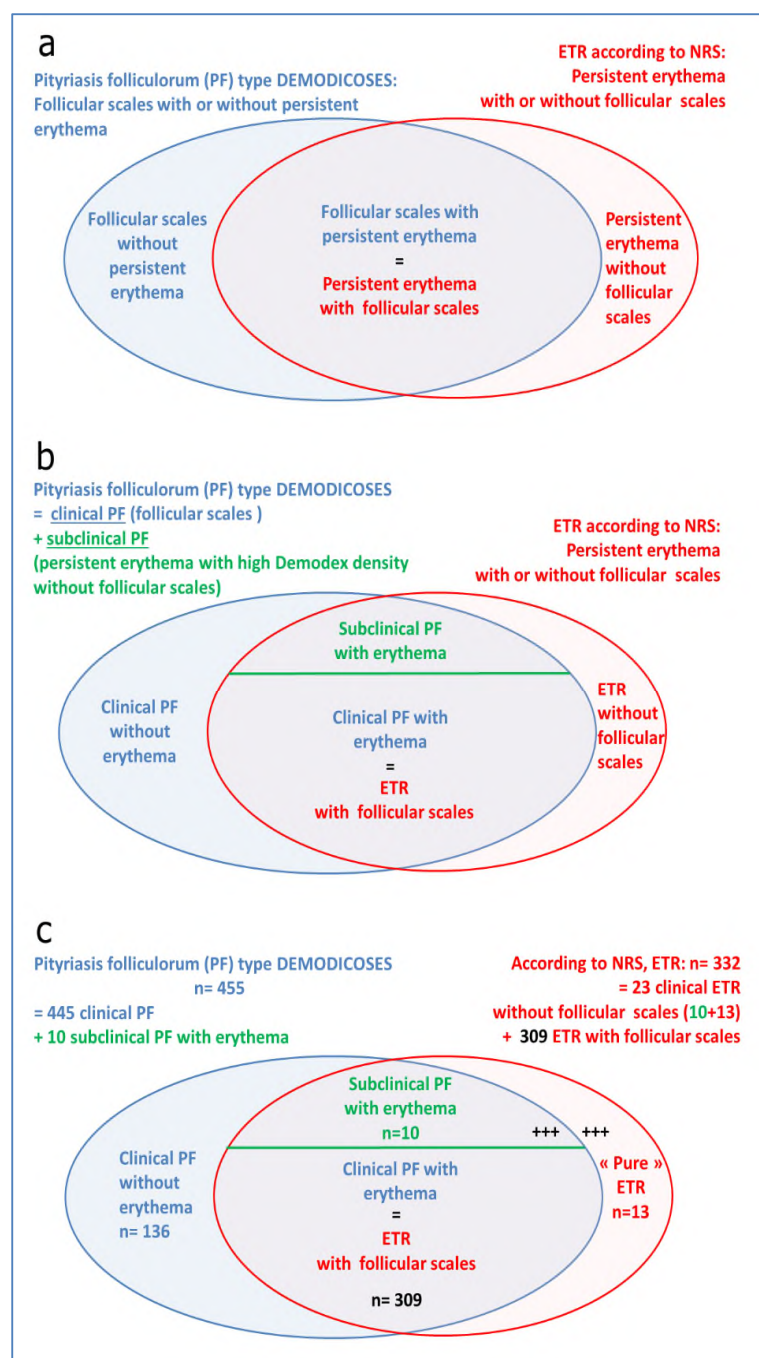
- soit une prolifération des Demodex donne initialement lieu à un pityriasis folliculorum sans érythème, et celui-ci se développe dans un deuxième temps suite à l'inflammation provoquée par les acariens,
- soit la RET due à d'autres facteurs favorise la prolifération des acariens dans un second temps (probablement via le VEGF), ce qui entraîne ensuite une augmentation de l'érythème en raison de l'inflammation.

Le pityriasis folliculorum et la RET paraissent donc bien unis (probablement par le VEGF) et font bien partie de la même entité, mais ils peuvent apparemment exister séparément, soulignant les autres origines possibles à la fois de la prolifération en parasites et de la RET ; ce qui contribue à placer la prolifération en parasites au centre du schéma

physiopathogénique. Ils pourraient aussi parfois être d'origine unique, mais d'apparitions décalées dans le temps, par exemple suite aux différents effets du VEGF qui pourraient ne pas être synchrones : la prolifération du Demodex pourrait se développer en retard, parfois, par rapport aux phénomènes vasculaires, et vice versa.

Fig. 97. Intrication et confusion entre pityriasis folliculorum et RET.

(a) Illustration schématique de cette **l'intrication**, selon les concepts de la NRS et le nôtre ;
 (b) Intégration des **démodécies subcliniques** avec érythème persistant (sans écailles folliculaires visibles, mais avec néanmoins une haute densité en Demodex (Dd)) (en vert) dans le groupe des démodécies ;



(c) Parmi les 468 patients de notre étude avec pityriasis folliculorum ou RET (Tableau 16, § 4.2.6), la NRS aurait probablement diagnostiqué 332 RET, dont 309 (93%) présentaient des écailles folliculaires. Nous n'en avons diagnostiqué cliniquement que 23 (sans écailles folliculaires), dont 13 seulement sont des « pures » RET, sans prolifération détectée de Demodex, les 309 autres sujets ayant été diagnostiqués « pityriasis folliculorum ». Les patients présentant à la fois un érythème persistant et une haute Dd sont les plus nombreux (319/468=68%). Dans la vie réelle, la proportion de patients présentant une RET sans squames folliculaires est néanmoins certainement plus élevée ("+++") car dans notre étude, ces patients n'ont été inclus que lorsque nous avons le temps de pratiquer la SSSB, alors que tous les patients présentant des squames folliculaires ont été inclus.

5.2.2.2. Démodicose pseudo-rosacée et RPP : deux facettes de la même maladie

L'analyse de l'historique des descriptions des démodicose et de la rosacée montre que ces descriptions ont été réalisées indépendamment l'une de l'autre, à partir de deux points de vue différents (§ 1.3.1. et 1.4.3.) (Fig. 98). En effet, il y a 90 ans, Ayres a décrit la première démodicose, signifiant que, dès le début, il a défini la démodicose par sa cause, la prolifération des Demodex. La définition de la démodicose est donc essentiellement étiologique. Au contraire, la rosacée, dont la cause est, encore aujourd'hui, considérée comme inconnue, est définie par ses signes et symptômes cliniques, par des consensus d'experts : elle est ainsi régulièrement controversée, varie selon les consensus successifs, et, surtout, ne peut pas être comparée à une définition étiologique. **Ces deux définitions ne sont donc pas basées sur les mêmes critères : l'une est étiologique tandis que l'autre est clinique. Elles ne sont donc pas opposables.**

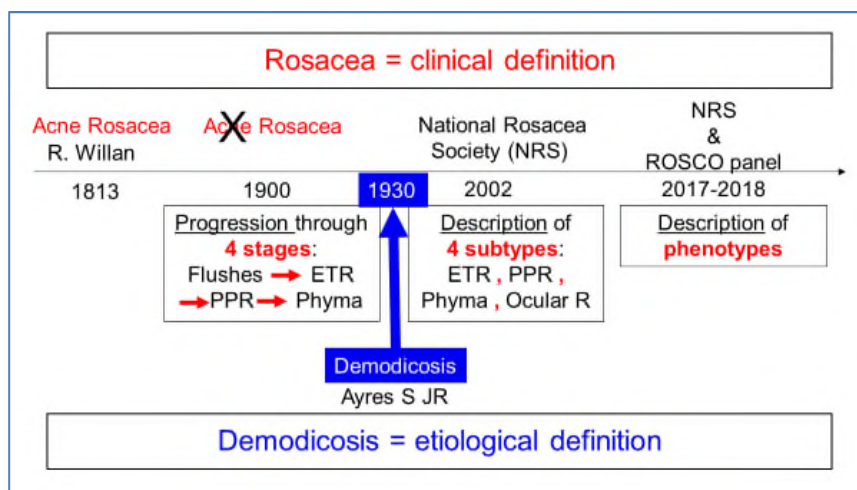


Fig. 98. Ligne de temps rassemblant les définitions successives de la rosacée et celle des démodicose.

Mais ces deux « dermatoses » sont en fait extrêmement similaires : (1) leurs définitions ne sont pas opposables, (2) leurs symptômes sont similaires,^{161,226} aucun critère clinique n'étant exclusif et la plupart des patients présentant un mélange des caractéristiques cliniques attribuées en théorie à chacune des deux entités (§ 4.2.5.),¹⁶¹ (3) leurs histologies sont similaires (§ 1.3.2. et 1.4.4.),²²⁶ (4) leurs densités en Demodex

sont similaires (§ 4.2.5),¹⁶¹ et (5) toutes deux répondent très bien au même traitement purement acaricide, tant du point de vue des densités en Demodex que des symptômes cliniques (§ 4.2.8).^{562,563}

Il devient donc très difficile de défendre le point de vue selon lequel, dans ces deux maladies similaires, la prolifération exagérée des parasites jouerait un rôle différent, causal dans l'une et épi-phénoménal dans l'autre. Ces définitions, clinique de l'une et étiologique de l'autre, apparaissent comme deux approches différentes d'un même objet, deux facettes de **la même maladie**, qui peut avoir des manifestations cliniques variables (Fig. 99).

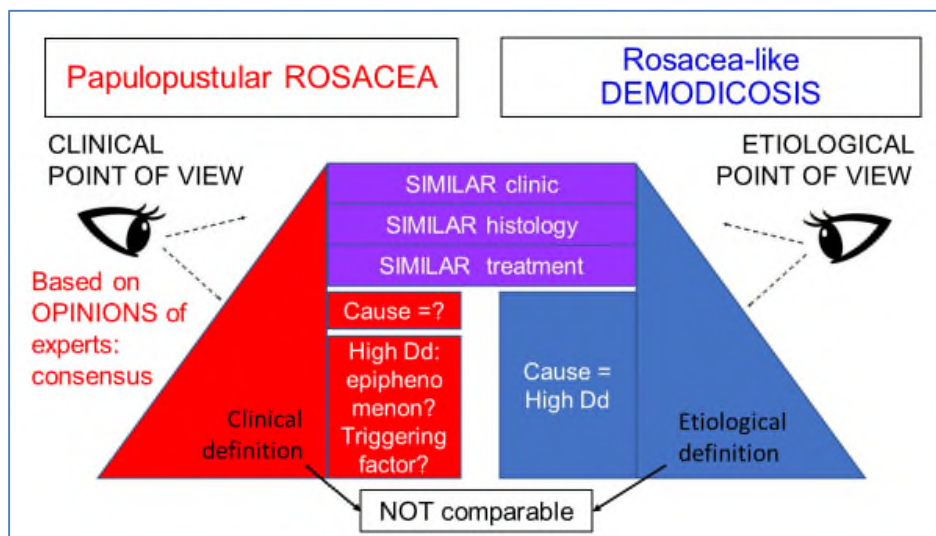


Fig. 99. Représentation schématique illustrant les **deux approches différentes** : l'une en définit le versant clinique, l'autre le versant étiologique, mais il s'agit de la même

maladie, à l'instar des visions des deux versants d'une même montagne : l'une décrit le versant nord, l'autre le versant sud, mais il s'agit bien de la même montagne.

Nos observations soutiennent donc l'idée **que la RPP et la démodécie pseudo-rosacée ne devraient plus être considérées comme deux entités distinctes**, mais plutôt comme deux phénotypes de la même maladie.¹⁶¹ Et elles suggèrent même d'aller plus loin. En effet, ces deux phénotypes « à l'état pur » sont relativement rares car la grande majorité des patients en présente un mélange.¹⁶¹ Comme ces 2 phénotypes « théoriques » sont entremêlés en pratique dans la grande majorité des cas, ils ne devraient même plus être considérés du tout. Il serait plus judicieux de considérer simplement une seule maladie pouvant présenter différents symptômes (ce qui s'inscrit dans l'esprit du consensus de la rosacée basé sur les phénotypes). Ainsi, la définition de la rosacée de sous-type II (RPP), ou, pour utiliser les termes du dernier consensus (voulant supprimer les sous-types), **la « rosacée avec papulopustules » devrait être reconsidérée et simplifiée pour y inclure tous les patients présentant des papulopustules centrofaciales** - avec ou sans érythème persistant - et donc aussi les patients présentant une **démodécie pseudo-rosacée, terme qui devrait donc disparaître.**

En corolaire, comme les **squames folliculaires** constituent le symptôme le plus souvent observé parmi nos patients, et qu'elles sont corrélées avec la présence d'érythème persistant, signe diagnostique de la RPP,⁵⁶⁴ elles devraient également être reconnues comme un **critère majeur du diagnostic de rosacée**, tout comme la **haute Dd** (§ 4.2.3. et 4.2.4).

5.2.2.3. La RPP comme un des phénotypes de démodécie

De plus, les similitudes entre les patients atteints de démodécie et de PPR-suggestive (densités en Demodex,²¹² symptômes cliniques discrets retrouvés avec une fréquence similaire (squames folliculaires, le prurit et les symptômes du cuir chevelu),⁵⁶⁴ réponse au même traitement),⁵⁶² ainsi que la mise en évidence du lien entre ces deux groupes (la RET avec haute densité en Demodex),⁵⁶⁵ conforte l'idée que, non seulement la démodécie pseudo-rosacée, mais aussi toutes les autres démodécies ne sont que différents phénotypes de la même maladie que la RPP ; et donc que **la RPP devrait être considéré comme un des phénotypes de démodécie**.

Par ailleurs, du point de vue clinique, **d'autres similitudes sont à remarquer entre démodécie et rosacée** : les rosacées décrites sur le crâne^{310,312} sont tout à fait semblables aux folliculites à Demodex,¹⁸⁹⁻¹⁹² et les démodécies oculaires (§ 1.3.1.3.) et les rosacées oculaires (§ 1.4.3.) ne sont pas différenciables.

5.2.2.4. Proposition de refonte de la nosologie

Tenant compte de ce nouveau schéma physiopathogénique mais aussi de la volonté actuelle des autorités dermatologiques d'utiliser les symptômes (rassemblés en phénotypes), nous proposons d'adopter carrément une toute autre terminologie et classification (Fig. 100), attribuant les noms des maladies quand c'est possible, en accord avec leur cause.

Nous proposons ainsi de considérer la classification et les termes de :

(a) Rosacée vasculaire pure (ou RET) : patients avec érythème permanent et/ou « flushs et/ou télangiectasies » (§ 1.4.3.), sans signe clinique de démodécie et avec densité en Demodex normale,

(b) Démodécie subclinique érythématotélangiectasique, quand ce même tableau clinique est associé à une densité en Demodex élevée,

(c) Démodécie clinique, quand il y a un/des signes ou symptômes de démodécie, confirmé par la présence d'une haute densité en Demodex, entité qui comprendrait :

1. **Le pityriasis folliculorum**,
2. **La démodécie papulopustuleuse** qui inclurait et remplacerait les termes de **rosacée papulopustuleuse**, rosacée sous-type II, rosacée avec papulopustules avec ou sans érythème, démodécie pseudo-rosacée, ainsi que la rosacée granulomateuse. Cela permettrait d'établir clairement l'origine de la RPP.

Cependant, le terme « rosacée » est tellement connu du grand public, médical et populaire, que cela risque de ne pas se faire facilement. En tous cas, comme ces entités ne sont pas différentes, il ne faudrait qu'un seul nom.

3. Et ses **variantes** : les papules inflammatoires isolées, les folliculites à Demodex, le prurigo démodécique, les eczématides folliculaires à Demodex,

4. Les **démodécies oculaires**,

5. Les **pigmentations post-inflammatoires** à Demodex, pouvant survenir au cours du pityriasis folliculorum et des autres démodécies plus inflammatoires,

6. Et même **le phyma** qui pourrait rentrer dans ce cadre (§ 5.2.1.5.).

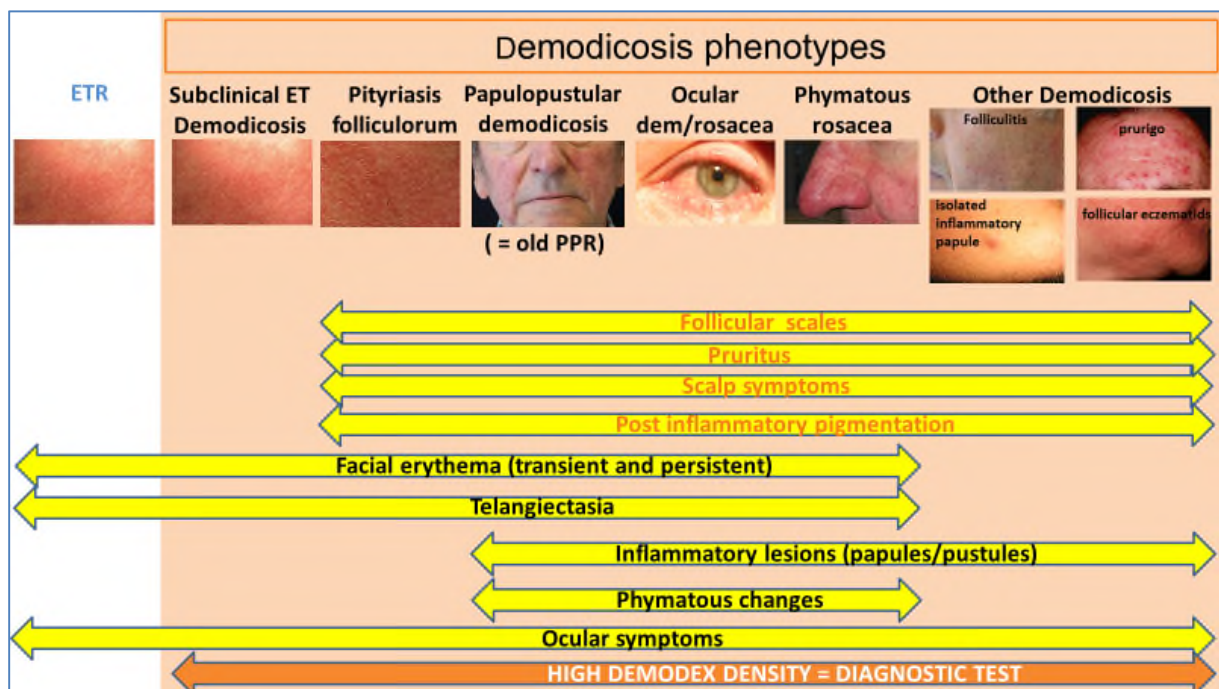


Fig. 100. Proposition de refonte complète de la nosologie avec intégration de la rosacée papulopustuleuse parmi les démodécies, avec quelques réserves concernant le phyma qui, bien que théoriquement à sa place, n'a pas encore été exploré en ce sens.

Les différents phénotypes de démodécies sont en haut, en noir sur fond orangé ; **les différents symptômes** dans les flèches jaunes et **le test diagnostique** de la maladie sur fond orange. Les symptômes mis en évidence dans nos études sont rajoutés (en orange) aux symptômes considérés par Tan *et al* (en noir) pour le diagnostic de rosacée³⁴⁰ (Fig. 51). Le terme de rosacée papulopustuleuse (RPP) disparaîtrait au profit du terme de « **démodécie papulopustuleuse** » afin d'éviter toute ambiguïté. Seule dans cette figure, la RET (ETR) avec densité en Demodex normale n'est pas une démodécie, mais peut en être un précurseur, ou un état lié par un facteur déclenchant commun⁵⁸⁹ (§ .4.2.6. et 5.2.1.1. A.4.b.).

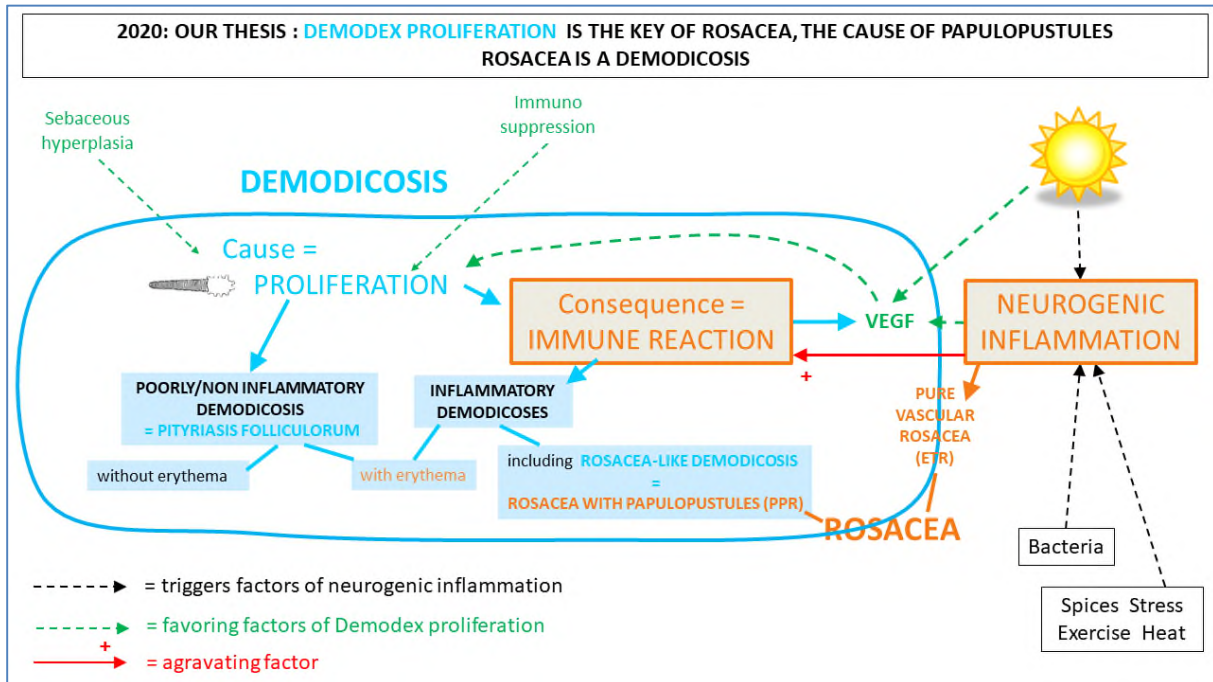
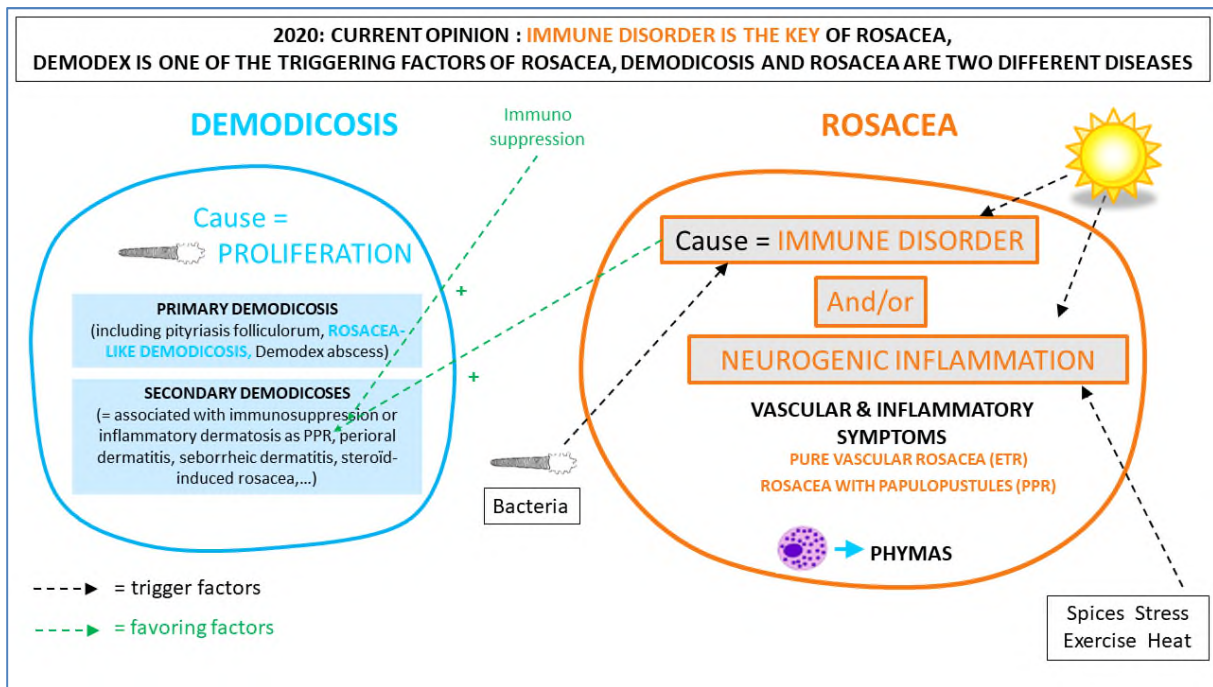


Fig. 101. Comparaison entre la conception habituelle actuelle de la rosacée et des démodécies (Fig. 64, reproduite en haut) et celle que nous proposons (en bas).

Dans notre hypothèse, en bas, la RPP est une démodécie. L'inflammation neurogène peut vraisemblablement (1) provoquer la RET « pure », (2) aggraver la réaction immunogénique vis-à-vis du Demodex (via la stimulation des mastocytes par la substance P), et, (3) via la production de VEGF par les mastocytes, favoriser aussi la prolifération des parasites. La RET « pure » devient un état intermédiaire, dont l'existence en dehors de la démodécie n'est peut-être que provisoire. En conséquence, l'entité même de « rosacée » perd son contenu, se disloque, afin de se fondre presque entièrement dans l'entité plus large de démodécie.

5.3. Implications pratiques

5.3.1. Un test diagnostic est disponible

Les dermatologues disposent maintenant d'un **test diagnostic**²¹² praticable directement au cabinet, qui commence à être reconnu par les autorités dermatologiques :⁴²¹ il est simple, quasi non invasif, en tous cas beaucoup moins qu'une biopsie classique sanglante, peu coûteux, et il ne nécessite qu'environ 5 à 10 minutes avec un peu d'habitude. Son résultat immédiat permet au dermatologue d'adapter son attitude dans la bonne direction dès la première consultation. Par conséquent, alors que ces 5 à 10 minutes sont souvent considérées comme un frein à pratiquer le test par le dermatologue pressé, ce temps « perdu » en fera gagner, à lui et au patient, sur le long terme : le test permet d'éviter bien des erreurs diagnostiques, des traitements inutiles, pour une affection qui est fréquente, et donc il permet d'éviter de très nombreuses consultations superflues.

Il permet aussi de suivre l'évolution sous traitement et de passer au traitement d'entretien quand le patient est « totalement » guéri (sans symptômes et avec Dd normalisée). Ce test est donc utile non seulement au dermatologue et au patient, mais aussi au niveau socio-économique. Par conséquent, il devrait pouvoir **être remboursé à sa juste valeur**.

La double SSSB est beaucoup plus sensible qu'une simple SSSB, car la majorité des *D folliculorum* n'est détectée qu'à la deuxième SSSB : cela vaut donc la peine de **nettoyer la peau à l'éther et d'effectuer systématiquement 2 SSSBs successives**.

Leur somme (SSSB1+SSSB2) équivaut grossièrement²¹² à la quantité de parasites visualisés par la technique plus récente, beaucoup plus sophistiquée et couteuse de microscopie confocale.^{212,345}

Cependant, s'il permet de confirmer le diagnostic clinique de RPP et/ou de démodécie, il n'exclut toutefois pas une autre dermatose éventuelle associée. Et les démodécies dues au *D brevis* peuvent ne pas être diagnostiquées par cette méthode, qui pourra donc être complétée par une analyse du contenu de pustules le cas échéant (§ 4.2.3.3.).

5.3.2. Une seule maladie est à prendre en charge

Le fait de considérer **la RPP et la démodécie pseudo-rosacée comme une seule entité**¹⁶¹ rend la pratique quotidienne du dermatologue plus simple et plus cohérente : il ne doit plus essayer de distinguer ce qui est, dans la plupart des cas, indistinguable; il peut poser un seul et même diagnostic clinique, confirmer celui-ci par un seul et même test diagnostic, et prescrire le même traitement acaricide.

5.3.3. Des symptômes discrets aiguillent le diagnostic

Dépister les **symptômes cliniques** mis en évidence⁵⁶⁴ (les écailles folliculaires, le prurit et l'atteinte du cuir chevelu) permettra au dermatologue de se rendre compte des similitudes entre les RPPs et les démodécies, l'encouragera à pratiquer le test diagnostique décrit, et donc à mieux diagnostiquer ces maladies. De plus, une **plainte initiale uniquement subjective** du visage (comme le prurit, sensation de brûlure ou d'hypersensibilité de la peau) ou située ailleurs que sur la peau du visage (**au niveau des yeux ou du cuir chevelu**) peut également amener le dermatologue à inspecter la face et à diagnostiquer une démodécie faciale discrète.

5.3.4. Le dépistage et le traitement des démodécies parmi les RETs est encouragé

Actuellement le pityriasis folliculorum est mal diagnostiqué et donc mal traité. Nos travaux encouragent les dermatologues à diagnostiquer les démodécies en général et celles qui sont « associées » à une RET en particulier, afin de **les traiter** avant d'envisager le traitement d'un érythème ou d'une couperose par laser (ou IPL) ou brimonidine par exemple. Ceci a de multiples avantages : (1) parfois, ces derniers traitements ne seront plus nécessaires (§ 5.5.1.).⁵⁸⁹ (2) Cela permet d'éviter les poussées inflammatoires déclenchées par les traitements au laser ou IPL^{471,589} qui sont rapportées en cas de pityriasis folliculorum ou démodécie subclinique (il y a probablement une inflammation latente, subclinique, constatée d'ailleurs dans les biopsies de RET (§ 1.4.4.), qui peut être exacerbée par le traitement au laser (§ 4.2.9.1.)).^{471,589} (3) En plus, dans notre expérience personnelle, le traitement acaricide est très efficace pour soulager les signes subjectifs (comme le prurit, les sensations de brûlure, de peau sèche et l'hypersensibilité de la peau) : une fois la densité de Demodex normalisée, ces symptômes disparaissent. (4) Par ailleurs, comme les parasites ne sont plus là pour irriter la peau et déclencher potentiellement la réaction immunitaire, il n'y a plus de raison qu'elle se produise et donc, par ce biais, nous pourrions vraisemblablement éviter le développement des papulopustules : l'efficacité de ce **traitement probablement préventif de la RPP** est bien sûr à confirmer par des études prospectives sur le long terme.⁵⁸⁹

5.3.5. Le dépistage des démodécies subcliniques est encouragé

Dans le même esprit, nous proposons de dépister les démodécies subcliniques⁵⁶⁵ parmi les RETs (parmi lesquelles elles sont particulièrement fréquentes) et de les traiter. Cette attitude devrait être, elle aussi, confirmée par des études prospectives sur le long terme.⁵⁸⁹

Ces démodécies subcliniques pourraient aussi avoir une importance non négligeable au niveau des **études cliniques** : il nous semble prudent que, dans les investigations scientifiques concernant toutes les dermatoses faciales, **le test soit effectué systématiquement** pour catégoriser les patients correctement. En effet, cela permettrait de savoir que chez certains patients il y a une démodécie subclinique associée à la dermatose étudiée, et de même chez certains contrôles à priori « sains » à l'œil nu. Cela éviterait aussi, par la même occasion, d'incorporer des pityriasis folliculorum cliniques (peu visibles ou même cliniquement évident) si le dermatologue n'a pas l'habitude de les déceler (§ 4.2.6.3.).

5.3.6. Un traitement efficace, étiologique et peu coûteux est proposé

L'effet du traitement purement acaricide sur les symptômes cliniques (§ 4.2.8.)⁵⁶² vient confirmer indirectement le rôle du parasite dans le développement de la rosacée au niveau physiopathologie mais aussi en pratique : comme les dermatologues peuvent le constater eux-mêmes **dans leur pratique quotidienne**, ils sont être interpellés par l'importance du Demodex. Cela **permet aussi une meilleure prise en charge, plus étiologique, de la rosacée.**

Parmi les différentes modalités de BB testées, **le BB 20% 1x/j et le 12% 2x/j** sont nettement plus efficaces que le BB12% 1x/j au premier contrôle (à 2,7 mois en moyenne), ce qui semble surtout lié à un effet plus rapide visualisé lors du suivi à plus long terme. Ce traitement est potentiellement irritant et ne peut donc que constituer un **deuxième choix** par rapport à l'ivermectine, qui, d'après notre expérience, est tout aussi efficace, tant sur les symptômes que sur la densité en Demodex, mais mieux toléré. Cependant, la crème à base d'ivermectine est extrêmement chère (pour un tube de 30 g : environ 36€ en Belgique, 150-160\$ aux USA et au Canada ; pour le grand format : environ 50€ en Belgique pour un tube de 60 g jusqu'à 430\$ aux USA et au Canada pour un tube de 90 g). La crème au benzoate de benzyle est beaucoup moins chère (en Belgique : 1.30€ payé par le patient + 25.67€ facturé à la mutuelle pour un tube de 50 g en 2020). Celle-ci peut donc trouver sa place dans l'arsenal thérapeutique du dermatologue : quand l'ivermectine n'est pas disponible, quand le patient préfère payer moins cher ou ne peut pas se payer l'ivermectine, quand il est allergique à l'ivermectine....

5.3.7. Le traitement systématique du cuir chevelu est envisagé

La mise en évidence de l'atteinte du cuir chevelu, et de sa fréquente association avec l'atteinte oculaire,⁵⁶⁴ pose la question du **traitement systématique du cuir chevelu**, et ce, surtout en cas d'atteinte oculaire.

Personnellement, dans le but de normaliser la densité en Demodex sur l'entièreté de la tête, nous traitons quasi tous nos patients systématiquement 2x/semaine avec une lotion à base de 10% de benzoate de benzyle appliquée en début de soirée et en quantité limitée (afin d'éviter absolument qu'il y en ait dans les yeux), en association avec un shampoing soufré (posé pendant 3-5 minutes avant d'être rincé) le lendemain matin. Nous renonçons à prescrire la lotion en cas de densité relativement faible ou en cas de difficulté d'application, en insistant alors sur la nécessité d'utiliser au moins le shampoing soufré. Cette attitude devrait elle aussi être corroborée par des études prospectives contrôlées sur le long terme.

5.4. Limites

La nature rétrospective de l'analyse est responsable de différentes limites de notre étude :

1. Les effectifs d'échantillons de patients n'ont pas été estimés à l'avance et les faibles effectifs dans certains groupes n'ont peut-être pas permis de mettre en évidence certaines différences potentielles (ex : groupe BB20% 1x/j) ;
2. Les patients atteints de RET, d'autres dermatoses faciales et les contrôles sains n'ont été inclus que quand les circonstances le permettaient ; ce qui explique en partie les effectifs relativement faibles des contrôles sains et des RETs par rapport aux autres groupes ;
3. Des différences d'âge et de sexe entre les groupes sont observées dans plusieurs de nos études ; néanmoins, la méthode statistique utilisée (ANCOVA) a corrigé pour ces facteurs confondants potentiels, de telle sorte que les différences de densité en Demodex observées ne peuvent pas être expliquées par ces inégalités ;
4. Les seules variables démographiques recueillies étaient l'âge et le sexe, de sorte que nous n'avons pas été en mesure de tenir compte d'autres facteurs de confusion potentiels, tels que les différences ethnographiques par exemple ;
5. Le prurit et l'atteinte du cuir chevelu n'ont pas été relevés systématiquement au début de l'étude ;
6. L'investigation des facteurs influençant potentiellement la Dd a été réalisée en tant que première approche, de façon peu précise : les cosmétiques ont été considérés en bloc (non distingués entre eux), de même que les savons, et leur fréquence d'utilisation n'a pas été relevée, de même pour les traitements antérieurs (ni la longueur du traitement, ni la dose ne sont spécifiées), les problèmes de santé généraux n'ont pas été relevés parmi nos patients Demodex-, et, parmi nos sujets Demodex+, les données détaillées des problèmes thyroïdiens n'ont pas été relevées (intensité de l'hypothyroïdie, traitements, ...), etc ;
7. Les études thérapeutiques n'ont pas été effectuées versus placebo ;

8. Les traitements ont changé au cours du temps, suivant les améliorations progressives du traitement au cours des années de pratique, et n'ont pas été attribués de façon randomisée en double aveugle ;
9. Il y a des différences de traitement au sein même de certains groupes thérapeutiques (différents excipients utilisés dans le BB12% 1x/j, différentes concentrations de BB au sein du groupe BB20% 1x/j, regroupement des groupes BB12% 2x/j et BB20% 1x/j au sein du groupe « T traitement fort » dans l'étude de l'épisode entier) ;
10. Le crotamiton a été chaque fois additionné au benzoate de benzyle : il ne semble pas avoir une action importante, mais des études prospectives de contrôles devraient être effectuées avec le benzoate de benzyle seul ;
11. L'observance du traitement (compliance) a été évaluée uniquement d'après les dires du patient ;
12. Les effets secondaires n'ont pas été relevés, ni la tolérance ;
13. L'évaluation des symptômes a été faite de façon dichotomique, et non suivant un système de grades prenant en considération l'intensité de chacun d'eux ;
14. Comme la majorité des patients atteints de RPP dans notre pratique souffrent de rosacée légère à modérée, les résultats pourraient être différents chez les patients atteints de RPP plus graves. Nous n'avons pas pu explorer l'efficacité du traitement acaricide pur dans ces rosacées plus intenses car, afin de diminuer au plus vite les symptômes des patients dans ce cas, nous associons en pratique des traitements anti-inflammatoires (lymécycline) ou atrophiant les glandes sébacées (isotrétinoïne) et, dès lors, les effets dus au seul traitement acaricide ne sont pas évaluables ;
15. L'étude s'étend sur une longue période au cours de laquelle les critères diagnostiques, suivant les consensus, ont changé ; dans notre étude, les diagnostics ont donc été faits au départ suivant le consensus de l'époque, et les patients ont été reclassés par la suite suivant leurs symptômes qui avaient été enregistrés (rosacées avec papulopustules avec et sans érythème) ;
16. En particulier, le diagnostic de RET a été basé sur les signes cliniques selon l'usage courant, les anciennes définitions et notre expérience mais non sur base de l'actuelle définition du consensus du panel ROSCO, qui a été publié après la fin de notre présente étude, mais cela ne change pas grand-chose à notre avis ;
17. Ce travail, basé essentiellement sur la double SSSB, considère principalement *D. folliculorum*. En effet, *D. brevis*, même s'il joue probablement un rôle pathogène similaire au *D. folliculorum* dans la RPP, n'est observé qu'occasionnellement sur une SSSB en raison de sa localisation profonde.

5.5. Perspectives

5.5.1. Nosologie

La NRS commence à reconnaître la haute Dd comme un **marqueur** de la rosacée en citant notre article « test diagnostique » comme référence en 2018 :⁴²¹ cela veut dire qu'ils acceptent le constat que le Demodex peut être mis en évidence chez quasi tous les patients atteints de RPP. Si nous nous référons aux critères d'attribution des maladies (§ 5.2.1.4.), nous sommes donc sur la bonne voie pour qu'ils reconnaissent bientôt la prolifération en Demodex comme cause de la rosacée.

Du point de vue nosologique, reconnaître le rôle pathogène du Demodex dans la rosacée permettrait de classer la RPP parmi les démodécies, et de donner une **définition étiologique de la rosacée**. Les **critères diagnostiques devraient être modifiés**, en y incluant le test diagnostique et les caractéristiques cliniques mises à jour (squames folliculaires, prurit et symptômes du cuir chevelu) (§ 5.2.2.). Ceci permettrait de donner une place non discutée aux PPR-suggestives sans érythème persistant qui, actuellement sont tombées dans un no mans land nosologique, et clarifierait grandement le classement et la compréhension de ces maladies par les dermatologues, et donc améliorerait leur prise en charge (§ 5.3.2.).

Suite aux publications de l'étude globale rétrospective (§ 4.2.), l'éditeur du journal « Dermatology and Therapy » nous a invitée à écrire **un article de revue sur la pertinence de traiter les patients avec RET par acaricides locaux**.⁵⁸⁹ Outre une revue des données physiopathologiques actuellement admises, se retrouvent essentiellement dans cet article :

- La mise en évidence de la confusion nosologique entre RET et pityriasis folliculorum, ainsi que la similarité entre la RPP et la démodécie pseudo-rosacée (§ 1.5., 4.2.5. et 5.2.2.),
- Une proposition de modèle d'intrication nosologique, suggérant que ces différents phénotypes font tous partie de la même maladie (§ 5.2.2.) ;
- Nos nouvelles hypothèses physiopathogéniques concernant le rôle immunotolérologène de l'Ag Tn du Demodex et du VEGF dans la rosacée (§ 5.2.1.1. A.4.), amenant à considérer la rosacée comme une infection chronique par le Demodex avec une réaction d'épuisement lymphocytaire ;
- Une suggestion d'attitude clinique : (a) Dépister les pityriasis folliculorum parmi les RETs et traiter au moins ces patients-là par acaricides locaux ; (b) Traiter ensuite par laser ou IPL si nécessaire ; (c) Et enfin, traiter par vasoconstricteurs locaux, si le résultat clinique obtenu n'est pas satisfaisant.

L'article est en libre accès sur internet :

<http://link.springer.com/article/10.1007/s13555-020-00458-9>



The Pathogenic Role of *Demodex* Mites in Rosacea: A Potential Therapeutic Target Already in Erythematotelangiectatic Rosacea?

Fabienne M. N. Forton

Received: September 3, 2020
© The Author(s) 2020

ABSTRACT

Rosacea is a common facial dermatosis but its definition and classification are still unclear, especially in terms of its links with demodicosis. Triggers of rosacea (ultraviolet light, heat, spicy foods, alcohol, stress, microbes) are currently considered to induce a cascading innate and then adaptive immune response that gets out of control. Recent histological and biochemical studies support the concept that this inflammatory response is a continuum, already present from the onset of the disease, even when no clinical signs of inflammation are visible. The *Demodex* mite is beginning to be accepted as one of the triggers of this inflammatory cascade, and its proliferation as a marker of rosacea; moreover, the papulopustules of rosacea can be effectively treated with topical acaricidal agents. *Demodex* proliferation appears to be a continuum process in rosacea, and may not be clinically visible at the onset of the disease. Molecular studies suggest that *Demodex* may induce tolerogenic dendritic cells and collaborate with vascular endothelial growth factor (VEGF) to induce T cell exhaustion and favor its own proliferation. These interactions among VEGF, *Demodex*, and immunity need to be explored further and the nosology of rosacea

adapted accordingly. However, treating early rosacea, with only clinically visible vascular symptoms, with an acaricide may decrease early inflammation, limit potential flare-ups following laser treatment, and prevent the ultimate development of the papulopustules of rosacea. The effectiveness of this approach needs to be confirmed by prospective controlled clinical trials with long-term follow-up. Currently, the evidence suggests that patients with only vascular symptoms of rosacea should be carefully examined for the presence of follicular scales as signs of *Demodex* overgrowth or pityriasis folliculorum so that these patients, at least, can be treated early with an acaricidal cream.

Keywords: Benzyl benzoate; Demodicosis; Dendritic cell; Immunotolerance; Ivermectin; MGL; Rosacea; Standardized skin surface biopsy; Tn Ag; VEGF

F. M. N. Forton (✉)
Rue Frans Binjé 8, 1030 Brussels, Belgium
e-mail: fabienne@fforton.be

Key Summary Points

Rosacea is an inflammatory continuum, with all characteristics being already present from the onset of the disease, even if not clinically visible.

Demodex proliferation also appears to be a continuum process in rosacea, and high *Demodex* density is beginning to be accepted as an important trigger of the inflammatory cascade and as a marker of rosacea: moreover, papulopustules of rosacea can be treated using acaricides.

Immunological studies are providing new hypotheses according to which *Demodex* may induce tolerogenic dendritic cells and collaborate with VEGF to induce T cell exhaustion favoring its own proliferation. This proliferation may not be clinically visible initially.

The interactions among VEGF, *Demodex*, and immunity need to be explored, and the nosology of rosacea definitions adapted accordingly.

The effectiveness of treating any patient who only has visible vascular symptoms with an acaricidal cream needs to be confirmed in prospective controlled clinical trials with long-term follow-up, but it is already important to detect patients with pityriasis folliculorum among those with only vascular symptoms of rosacea in order to treat at least these patients with an acaricidal cream.

DIGITAL FEATURES

This article is published with digital features to facilitate understanding of the article. You can access the digital features on the article's associated Figshare page. To view digital features for

this article go to <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.13042940>.

INTRODUCTION

Rosacea and demodicosis are common conditions in dermatology practice. While demodicosis is clearly the result of infestation by the *Demodex* mite, the etiology of rosacea is unclear. However, there is increasing evidence to suggest that rosacea is an inflammatory continuum and that there is a key role for the *Demodex* mite in this inflammatory process. In this review, we will analyze these concepts further and discuss the possible implications for definitions and diagnosis, and also for treatment.

This article is based on previously conducted studies and does not contain any new studies with human participants or animals performed by the author.

ROSACEA: DEFINITIONS

Rosacea is a common facial dermatosis with a prevalence of up to 10% if all forms are included [1–4]. Pure vascular rosacea is the most common form, about four times more frequent than rosacea with papulopustules [1]. Because the cause of rosacea is still unknown, rosacea is defined by the presence of non-specific clinical signs and symptoms [5, 6]. Successive expert opinion consensus documents have provided definitions and classifications of rosacea but these remain a source of debate [7–11]. In 2002, the National Rosacea Society (NRS) expert committee defined rosacea as a central face distribution of at least one of four primary features (flushing, persistent erythema, papules and pustules, and telangiectasia) and identified four subtypes: erythematotelangiectatic rosacea (ETR), papulopustular rosacea (PPR), phymatous rosacea, and ocular rosacea [12]. Two key clinical features were considered necessary for a diagnosis of the ETR subtype (flushing and persistent centrofacial erythema) [12]. In the 2018 update, the NRS adopted the suggestions of the global ROSacea Consensus (ROSCO) panel [13], abandoning the subtypes in favor of

phenotypes, and defining rosacea as the presence of at least one of two core features [phy-matous changes and persistent centrofacial erythema (Fig. 1a)] OR two of four major features (flushing, telangiectasia, papules/pustules, ocular manifestation) [6]. In the present review, the abbreviation ETR will be used for the phenotype “rosacea with only vascular symptoms” and PPR for “rosacea with papulopustules”.

ROSACEA: AN INFLAMMATORY CONTINUUM

Rosacea is currently considered by most authors as a disease of the immune system, an inflammatory process including innate and then adaptive immune responses, which gets out of control resulting in vascular, inflammatory, and hypertrophic symptoms [2, 5, 14–22]. Genetic (46%) and environmental (54%) influences have recently been demonstrated in a study on twins [23], and many associated co-morbidities have been highlighted [24].

Histological and biochemical studies converge to suggest the continuum of this inflammatory process [25–38]. From the early stages of rosacea, all typical characteristics of the disease are present, although not all may be clinically visible [25]. These characteristics include dilation of blood and lymphatic vessels [26], solar elastosis [25, 27], and increased intradermal fibroblasts [28]. T cell infiltrates are also present from the early stages of rosacea, around intradermal vessels [25, 30], pilosebaceous follicles [25, 31, 32], and sebaceous glands [33]. These infiltrates are essentially composed of Th1 and Th17 type T helper cells (95%) [34–37] and T suppressor cells (5%) [35], but also of mastocytes [33], macrophages and plasmocytes [25], with a CD4⁺ helper/CD8⁺ cytotoxic ratio of 2.8, 31% CD4⁺CD25⁺ regulatory cells, and 6% plasmacytoid dendritic cells [38]. This infiltrate, often associated with *Demodex* mites [34, 35, 39], invades the follicular wall and forms granulomas, which have been found in all rosacea subtypes [25, 40, 41]. Expression of the genes encoding the cathelicidin peptide LL-37, a key factor in the pathogenesis of rosacea, and other markers of inflammation are already

increased in ETR and even more so in PPR [29], while dermal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) is similarly increased in ETR and PPR [26].

In PPR, this inflammatory reaction reflects a loss of the immunotolerant milieu seen in sebaceous gland-rich zones of healthy skin: dendritic cells become activated and T cells are increased in number and altered to inflammatory type [36].

DEMODEX AND DEMODICOSIS

Demodex folliculorum and *Demodex brevis* are spindle-shaped transparent mites that live exclusively, at low densities, in human pilosebaceous follicles [42–46] as part of the normal adult human microbiota [42, 46–54]. Humans are born without *Demodex* mites on the skin [43, 54], and the mites are progressively acquired by direct contact with the skin of other humans [44, 55]. As a commensal, the *Demodex* mite likely controls the immune system of the host, through undefined mechanisms, to ensure its own survival [8, 10, 56–60].

The delicate host/*Demodex* equilibrium may be tipped in favor of mite proliferation by various factors, including immunosuppression [61–88], diabetes [89–92]), vasodilatory-related factors [8, 10, 25, 27, 31, 57, 93–97], and/or sebaceous hyperplasia [8, 10, 51, 98]. Initially, overproliferation of the mite is not clinically visible, giving rise to what could be called sub-clinical demodicosis, which can be observed in many skin conditions (including apparently healthy skin and any facial dermatosis), but is commonly encountered in ETR [97] (Fig. 1d). When this proliferation continues, the opisthosomes of the mites become visible to the naked eye, appearing as thin, discreet, regularly dispersed, whitish follicular scales at the base of the hair, often associated with diffuse erythema (which is a key feature of rosacea) [57, 99–102]. These clinically visible symptoms constitute the first stage of demodicosis—pityriasis folliculorum [8, 56, 57, 99, 101–103] (Fig. 1c), called by some primary demodicosis [7]. The symptoms are very discreet and, if the dermatologist is not familiar with the condition and trained to



Fig. 1 Erythema of rosacea and pityriasis folliculorum. **a** Erythema of rosacea on white skin, according to the consensus of the National Rosacea Society (NRS): original photograph published by the NRS [6]. **b** However, as shown on a zoom on the right cheek, this photo clearly reveals the presence of follicular scales, suggesting a diagnosis of pityriasis folliculorum. **c** Demodicosis associated with vascular symptoms of rosacea: discreet thin whitish follicular scales at the base of the hair give a frosted appearance and a rough texture, suggesting a diagnosis of pityriasis folliculorum; this was confirmed by the diagnostic test. Each follicular scale corresponds to the most superficial part of numerous *Demodex* mites agglutinated on a single follicle (blue box). **d** Subclinical demodicosis with vascular symptoms of rosacea: the follicular scales were not detected on close clinical examination, even after cleaning the skin with ether and using tangential illumination, leading to the clinical diagnosis of erythematotelangiectatic rosacea. However, this patient had a high

Demodex density, suggesting a likely diagnosis of subclinical demodicosis. **e, f** Pityriasis folliculorum diagnosed as rosacea and treated with intense pulsed light (IPL): this 41-year-old woman complained of sensitive skin and redness of the whole face for 2 years. She consulted a dermatologist and was treated with isotretinoin for 8 months (30 mg/day for 6 months and 40 mg/day for 2 months) and then by IPL flash lamp (which emits simultaneous wavelengths between 530 and 1200 nm), with no resolution of her problems and even some aggravation. The dermatologist then sent the patient to our clinic for our advice. The patient had diffuse redness all over the face (not shown), more pronounced at the follicular orifices, with slight diffuse edema (visible on the lobule of the ear): the skin appeared irritated. On close examination, there was no vellus hair or follicular scales on the skin of the central face. After the skin was cleaned with ether, two standardized skin surface biopsies were consecutively performed on the right cheek and confirmed the absence of *Demodex* mite ($0 + 0$ D/cm²). Nevertheless, on small areas not treated by IPL, i.e., the lobule of the ear and the preauricular zone of the cheek, we discovered follicular scales suggesting *Demodex* mites. **e** On the preauricular zone, the mite density was very high, confirming the diagnosis of pityriasis folliculorum. The patient was instructed to apply an acaricidal cream (benzyl benzoate 12% and crotamiton 10% in Cetomacrogol cream) all over the face (not on the eyelashes or the lips) once daily for 1 week, then twice daily. **f** Two months later, facial signs and symptoms had cleared and the *Demodex* density was normalized on the preauricular zone ($0 + 0$ D/cm²). We concluded that the IPL may have killed the mites on the treated zones with release of their antigens and flare-up of the inflammation, or that the mites may still have persisted more deeply in the skin, in sufficient number to induce the inflammation. The standardized skin surface biopsy (SSSB1 + SSSB2) values are indicated on the figure. Part **a**, so also the zoom **b**, was reprinted from "Gallo RL et al. Standard classification and pathophysiology of rosacea: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(1):148–55", 2018, with permission from Elsevier. Parts **c** and **d** were reprinted from "Forton FMN, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis. A case control study. *Br J Dermatol.* 2019; 181: 818–25", 2019, with permission from John Wiley and Sons

detect it, may go unnoticed, so that this entity is often underdiagnosed [56, 98, 102, 104]. To detect the follicular scales, the dermatologist must examine the skin from a distance of maximum 30 cm, with good tangential lighting; sometimes cleaning the skin with ether may be necessary to reveal the scales [97, 99, 101, 105]. Subjective complaints (sensation of burning, pruritus, dry skin, hypersensitive skin, irregular or rough skin) may also be present [7, 56, 57, 99, 101–103]. Nevertheless, despite the discreet symptoms (likely because of the mites' control over host immunity), *Demodex* densities in the skin of these patients are usually high [101–103], with values ranging from 7 to 61 D/cm² depending on the sampling method used and the population studied [56, 57, 106, 107], and reaching as much as 285 ± 12 D/cm² when the densities of two consecutive standardized skin surface biopsies (SSSBs) are summed [108, 109].

Over time, a more inflammatory stage of the disease may occur. Despite the local immunotolerance likely induced by the mite, the host immune system mounts a chronic, exaggerated, and not very effective response, resulting in the development of the papules and pustules of demodicosis [57, 104, 110], clinically represented by “rosacea-like demodicosis” and other variants (*Demodex* folliculitis/abscesses, demodectic prurigo, isolated inflammatory papule, follicular eczematids, demodectic post inflammatory pigmentation, and ocular demodicosis) [7, 8, 10, 56, 57, 72, 101–103, 111–122]. The exact prevalence of demodicosis is unknown, but is at least 1.5 times more frequent than PPR in dermatological consultations [56].

DEMODEX PROLIFERATION IN ROSACEA: A CONTINUUM PROCESS?

Most authors still consider that proliferation of the *Demodex* mite in patients with rosacea is a secondary event, an epiphenomenon or an aggravating factor in which the initial inflammation promotes the proliferation of *Demodex*, which then exacerbates the disease [25, 123–127]. However, multiple observations

suggest that the *Demodex* mite may itself contribute to the early inflammatory process. Indeed, in histological studies, *Demodex* mites are found in 63% of cases with ETR, 85% to almost 100% of cases of PPR, and in 100% of hypertrophic forms of rosacea [31, 94]; they have also been identified in intradermal granulomas in 3–66% of patients with granulomatous rosacea [25, 128–131]. The mean facial density of the mite in patients with ETR is between the low density found in subjects with healthy skin and the very high density in those with demodicosis and PPR [95, 97, 132–135]. In an observational study, we observed an abnormally high *Demodex* density in about half of our patients with ETR (10/23 patients), with high variability in values showing that different patients had different degrees of *Demodex* proliferation [97]. As we took particular care not to include patients with discreet pityriasis folliculorum in our ETR group, we concluded that ETR may be associated with non-visible *Demodex* proliferation, possibly corresponding to a sub-clinical stage of demodicosis [97].

As PPR is more often observed after ETR than the inverse among patients with both PPR and ETR [136], and as the *Demodex* mite may be responsible for the papules and pustules of rosacea, this suggests that ETR is a condition that promotes mite proliferation [97], via a mechanism that is still unclear. One hypothesis is that vasodilation increases skin temperature [27, 31, 94], potentially promoting parasite reproduction, but the temperature, although it may be increased during flushes [137], does not appear to be higher in the skin of patients with ETR than in those without [138].

While it likely induces immunotolerance, *Demodex* is also able to stimulate the immune system's defense reaction [34, 43, 57, 58, 104, 110]. It stimulates Toll-like receptor 2 (TLR2) [58], resulting in an increased production of LL-37, with the subsequent angiogenesis and inflammation that are described in rosacea [15–18]. This implies the existence of a vicious circle including ETR, mite proliferation, and inflammation [10].

Demodex proliferation therefore seems to contribute to the continuum process in rosacea across all phenotypes.

DEMODEX AND IMMUNOTOLERANCE: A ROLE FOR VEGF AND THOMSEN- NOUVEAU ANTIGEN (TN AG)?

The apparent effect of ETR on *Demodex* proliferation [27, 31, 94, 97] may be explained by the immunosuppressive properties of VEGF, which were recently described in tumor pathology. VEGF inhibits maturation of dendritic cells, induces accumulation of immunosuppressive cells, such as regulatory T cells, and inhibits the migration of T lymphocytes to the tumor, thus favoring tumor cell escape from immune system surveillance [139, 140]. In rosacea, VEGF and its receptors, VEGF-R1 and VEGF-R2, are expressed not only by the epidermis, as in normal skin, but also by dermal infiltrating leukocytes (including lymphocytes, macrophages, and plasma cells) [141]. Moreover, accumulation of regulatory T cells has been observed [36, 38], as in demodicosis [142]. This suggests that, as in tumoral processes, VEGF may induce T cell exhaustion in rosacea and, through collaboration with tolerogenic dendritic cells, may favor the initial proliferation of the mite during the development of ETR (Fig. 2). The fact that *Demodex* densities can be normal in as many as half the patients with ETR [97] may be explained by a time lag between the immunomodulatory and pro-angiogenic effects of VEGF.

In addition to the direct action of VEGF on the maturation of dendritic cells [139], tolerogenic dendritic cells may be induced by several mechanisms. Initially, their production may be stimulated by high levels of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) observed in sebaceous gland-rich zones of the healthy skin, where it induces an immunotolerant milieu for commensal microbes [36]: this cytokine exists in two forms, a long (inflammatory) and a short (tolerogenic) isoform [143] and is produced by keratinocytes in response to microbial products, physical injury, or inflammatory cytokines [144].

Tolerogenic dendritic cells may also be induced by vitamin D₃ and/or endogenous glucocorticoids. Indeed, in rosacea, TLR2

stimulates the enzyme responsible for the second hydroxylation of vitamin D₃ in keratinocytes, which initiates the inflammatory cascade [18] and promotes innate immunity [17]. But vitamin D₃ also inhibits adaptive immunity: exogenous treatment with vitamin D₃ promotes tolerogenic dendritic cells and increases expression of PD-L1 in dendritic cells, thus suppressing T cell proliferation [145]. The combination of dexamethasone and vitamin D₃ is an even more potent inducer of tolerogenic dendritic cells [145]. Furthermore, in ETR, abnormal glucocorticoid endogenous synthesis has been observed [146].

Tolerogenic dendritic cells may also be induced by the *Demodex* mite: because *Demodex* expresses the Tn Ag [147], it is possible that the mite could use this to induce immunotolerance for its own benefit (Fig. 3). Indeed, the Tn Ag is a precursor of the tumor Thomsen–Friedenreich (T) antigen [147]. These two antigens are tumor-associated glycan structures, and high expression levels are correlated with poor prognosis and an increased ability of the tumor to metastasize [147, 148]. Recently, it was shown that Tn Ag is recognized by the macrophage galactose-type lectin receptor (MGL) of the dendritic cell, which, on contact with it, becomes tolerogenic [148], inducing T cell exhaustion [149–152] (Fig. 3). After stimulation of its TLR2, producing a slight pro-inflammatory reaction, the dendritic cell usually also produces interleukin-10 (IL-10) as a natural feedback loop to prevent excessive inflammation. When its MGL receptor is also stimulated, this production of IL-10 is markedly increased, the two receptors working synergistically [151]. IL-10 is thought to play a pivotal role in blocking the metabolic switch to glycolysis (which is linked to immunogenic functions) and stimulating the expression of inhibitory receptors on dendritic cells (including PD-L1) and cytokines that induce transformation to tolerogenic dendritic cells [145] (Fig. 3). As *Demodex* mites express the Tn Ag [147], these immune reactions may also occur after contact of mite Tn Ag with dendritic cells.

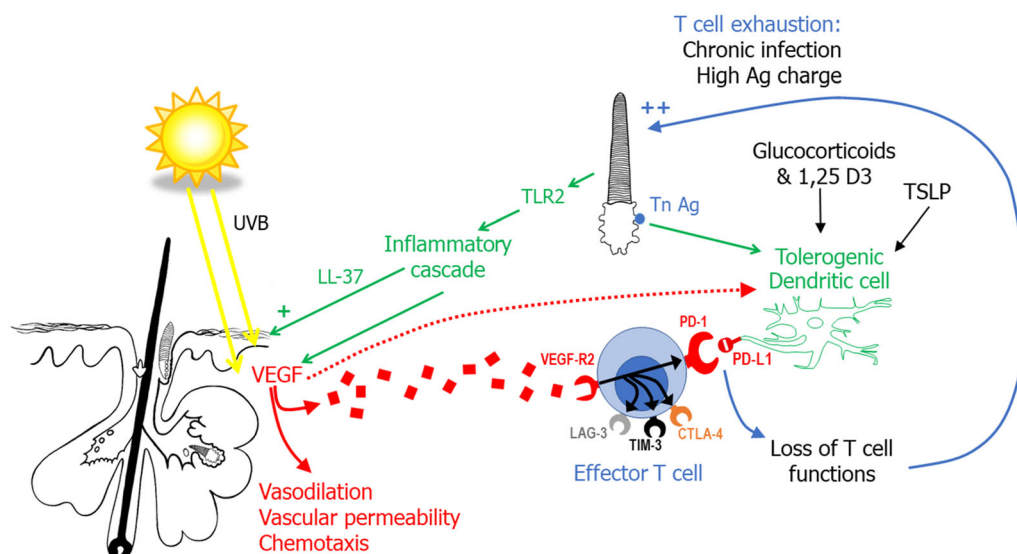


Fig. 2 Schematic of hypothesis that vascular endothelial growth factor (VEGF) may promote T cell exhaustion and therefore *Demodex* proliferation, by analogy with what happens with tumors. This figure assembles information from tumor pathology, from studies on *Demodex* and rosacea, and from the hypothesis formulated in Fig. 3. In tumor pathology, it is known that tumors secrete VEGF, which favors their development through its pro-angiogenic properties, but also by favoring T cell exhaustion: when VEGF is bound by the VEGF receptor (VEGF-R2) present on CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes, inhibitory receptors, such as programmed cell death 1 (PD-1), cytotoxic T lymphocyte antigen (CTLA-4), T cell immunoglobulin and mucin 3 domain (TIM-3), or lymphocyte activation gene 3 protein (LAG-3), are expressed on the lymphocyte surface [140]. When these receptors bind to their ligands, expressed by the tumors, this causes loss of lymphocyte function, with accumulation of regulatory T cells, reflecting T cell exhaustion [140]. In the skin, VEGF is produced by keratinocytes and fibroblasts under ultraviolet (UV) B induction [237, 238] and is increased in the dermis in rosacea, both in erythematotelangiectatic rosacea (ETR) and papulopustular rosacea (PPR) [26]. VEGF may play

the same role in rosacea as in tumor pathology and collaborate with the tolerogenic dendritic cells to induce T cell exhaustion. The PD-1 receptor, induced on the effector T cell surface by its synapse with VEGF, binds to the programmed death ligand 1 (PD-L1), expressed on the surface of tolerogenic dendritic cells: this synapse then causes a loss of T cell function [145]. Tolerogenic dendritic cells may be induced by the mite (Fig. 3), thymic stromal lymphopoietin (TSLP) [36], vitamin D₃ (1,25 D₃) and/or glucocorticoids [145, 149], and production is also favored by VEGF [139]. The *Demodex* mite activates a Toll-like receptor 2 (TLR2) pathway immune response [58], which induces increased production of the cathelicidin peptide, LL-37, and subsequent angiogenesis and inflammation [15, 18]. As LL-37 stimulates the activity of endothelial cells after UV exposure and may lead to increased sensitivity to UVB radiation [20, 21], theoretically, *Demodex* mites may also contribute to a higher sensitivity of the skin to UVB. This suggests a vicious circle that includes mite proliferation, TLR2, LL-37, sensitivity to UVB, and VEGF, providing a physiopathogenic link between ETR and PPR.

ROSACEA: CHRONIC *DEMODEX* INFECTION WITH T CELL EXHAUSTION?

Demodex therefore likely induces tolerogenic dendritic cells via its Tn Ag, for its own survival (Fig. 3). It also induces a defensive, immunogenic immune reaction aimed at eliminating

the mite, but probably succeeds in diverting this for its own benefit, by using VEGF and induced tolerogenic dendritic cells to cause T cell exhaustion (Fig. 2), as has been reported in dogs [153]. As some of the accumulated T cells will have lost their normal function [36, 38], the inflammatory reaction is likely to be insufficient to kill the mites, leading to a chronic infection

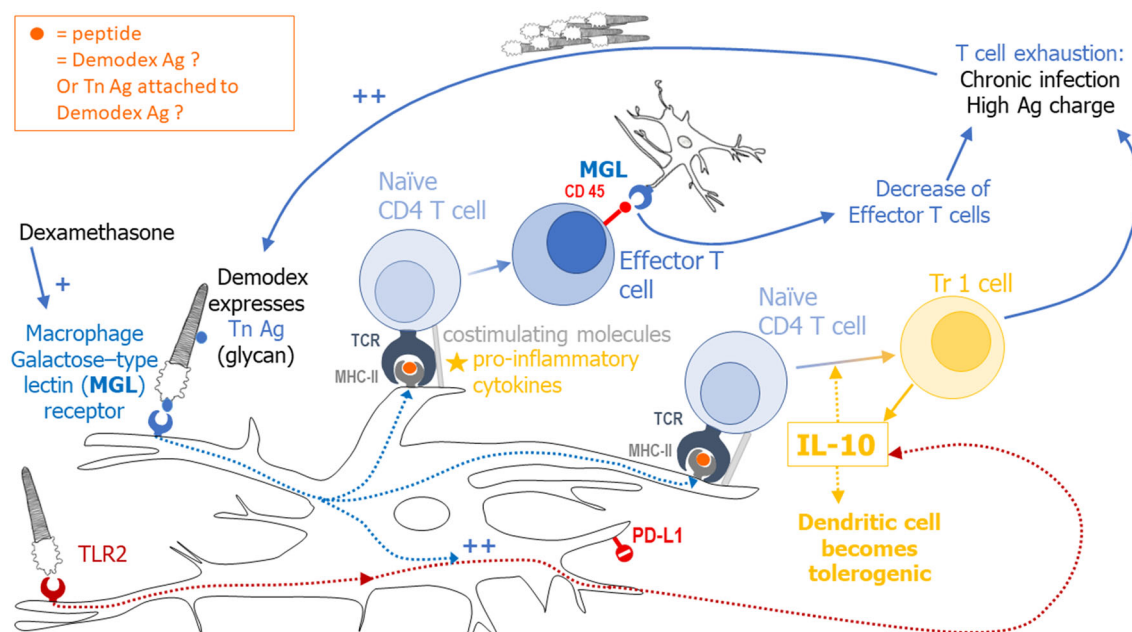


Fig. 3 How *Demodex* may manipulate the host immune system via its Tn Ag to induce dendritic cell immunotolerance. This schematic figure assembles information from immunological studies on dendritic cells and from immunohistological studies on *Demodex* and rosacea. Immunological studies have shown that when dendritic cells connect with the Thomsen-nouveau antigen (Tn Ag), through its macrophage galactose-type lectin receptor (MGL), the cells migrate towards the draining lymph node, where they initiate adaptive immunity [149]. The dendritic cells interact with naïve T cells to induce immunotolerance: a peptide Ag (small orange circle) with the major histocompatibility complex (MHC) type II is presented to the T cell receptor (TCR) of the naïve T cell, together with co-stimulation molecules (gray bar). If the dendritic cell also secretes pro-inflammatory cytokines (yellow star), the Ag presentation transforms the naïve T cell into an effector T cell expressing CD45. This interacts again with the MGL receptor of the dendritic cell [150], inducing loss of the functions of the effector T cell (decreasing proliferation, reducing production of inflammatory cytokines, and increasing apoptosis) [151]. If, instead of pro-inflammatory cytokines, there is interleukin

with persistence of a high antigenic load. This hypothesis places the dendritic cell, together with the mite, at the heart of the pathophysiology of rosacea and, because of the existence of different types of dendritic cells (polymorphism of dendritic cell genes), may explain the

(IL-10), contact with the naïve T cell results in its transformation into a Tr1 lymphocyte (with immunosuppressive functions), which in turn produces more IL-10 [148, 152]. The production of IL-10 by the dendritic cell after stimulation of its TLR2 is strongly increased when the MGL receptor is also stimulated [151]. IL-10 is thought to induce tolerogenic transformation of the dendritic cell and to stimulate the expression of inhibitory receptors (including programmed death-ligand 1 (PD-L1)) [145]. As *Demodex* mites express the Tn Ag [147], these immune reactions may also occur after contact of mite Tn Ag with dendritic cells. The peptide Ag (small orange circle) presented by the dendritic cells to the naïve T cell may be another *Demodex* Ag (exocuticle [239], proteases [167], its endosymbiont *Corynebacterium kroppenstedtii* [240], etc.) or the Tn Ag attached to a peptide *Demodex* Ag. The *Demodex* mite has also been shown to stimulate TLR2 [58], expression of which is increased in rosacea [18]. Dexamethasone treatment upregulated MGL expression on dendritic cells [149], and, in ETR, abnormal endogenous glucocorticoid synthesis has been observed [146]

differences in individual susceptibilities to *Demodex* antigens, and thus some of the genetic influence, as in inflammatory bowel disease [154].

DIAGNOSTIC CONFUSION

The potential role of the *Demodex* mite in the development of rosacea and the multiple similarities between demodicosis and rosacea lead to considerable diagnostic confusion. More work needs to be done to reach agreement on the diagnosis and relationship among demodicosis, ETR, and PPR, potentially leading to a consensus that they are all part of the same entity (Figs. 4 and 5) [8, 10, 155].

Pityriasis Folliculorum and ETR

When pityriasis folliculorum is associated with flushes, erythema, and/or telangiectasia, these obvious vascular symptoms may overshadow the discreet follicular scales of pityriasis folliculorum which are more difficult to identify (Figs. 1c, 5), thus potentially leading to a misdiagnosis of ETR based on the presence of persistent erythema. This diagnostic confusion may explain the unusually high *Demodex* densities observed in some studies of patients with ETR, similar to those observed in patients with PPR [29, 156]. Some patients with pityriasis folliculorum (with subclinical, subtle, or even obvious follicular scales) were probably misdiagnosed as ETR. Some authors may also have confused follicular scales with dry skin, with some even talking about two subtypes of ETR—scaly and not scaly ETR [157]—instead of the more likely diagnosis of pityriasis folliculorum. Others have suggested that this dry and rough aspect, with the possibility of fine follicular scales, is a characteristic of ETR [158]. This possible confusion highlights the importance of careful skin examination by a dermatologist experienced in the diagnosis of demodicosis.

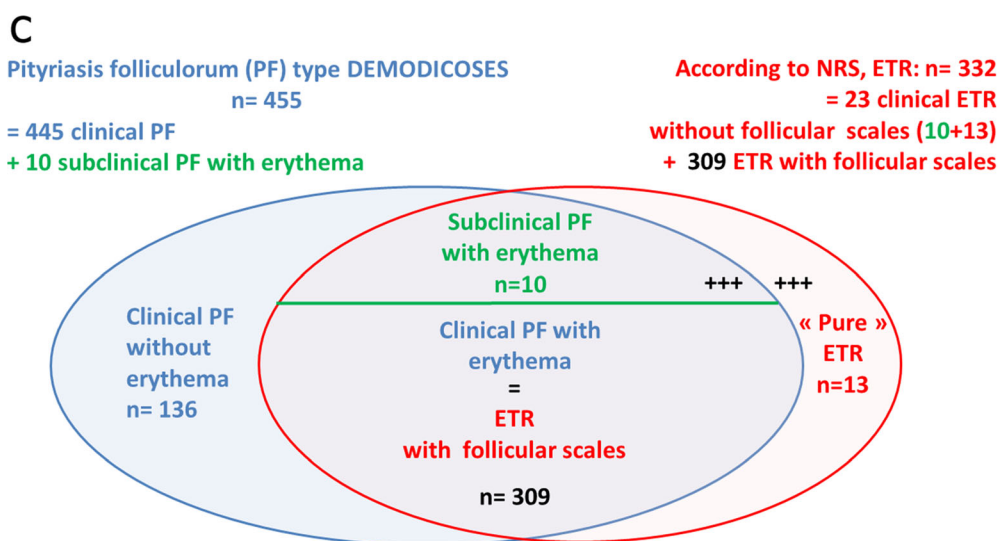
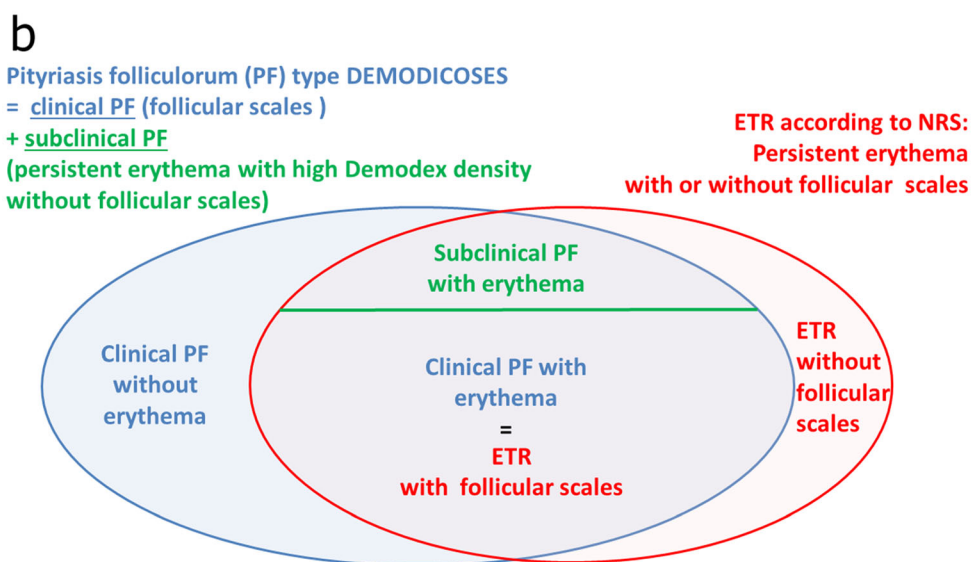
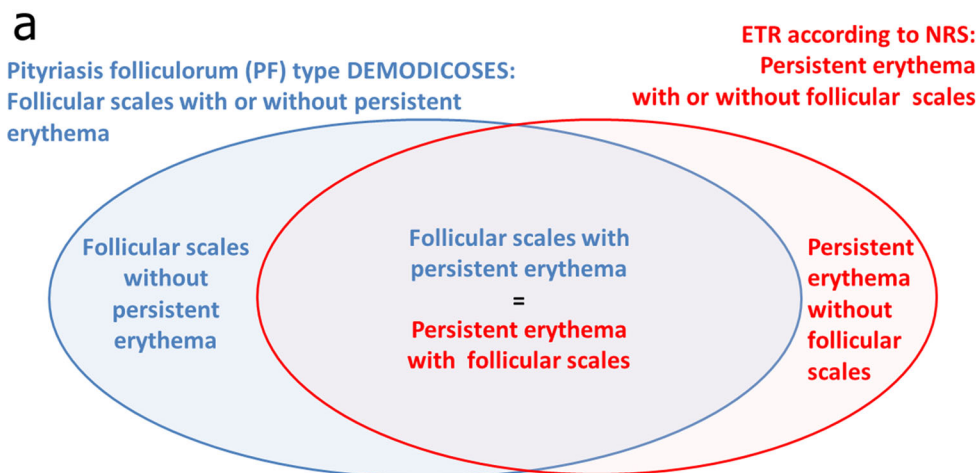
The ROSCO consensus specifies that demodicosis must be excluded before diagnosing rosacea, but without specifying how this should be done [13]. Interestingly, on the photo selected by the NRS to illustrate rosacea with only persistent erythema [6], there is evidence of the presence of follicular scales, suggesting that, according to the NRS, patients with ETR may have follicular scales, and thus pityriasis folliculorum (Figs. 1a, b, Fig. 4,

Table 1). Moreover, as a secondary ocular manifestation of rosacea, the NRS included collarette accumulation at the base of the lashes [6], likely corresponding to the cylindrical dandruff/follicular scales described in ocular demodicosis [118].

Rosacea-Like Demodicosis and PPR

If *Demodex* mites induce the immune response that leads to the papules and pustules of PPR [8, 10, 29, 31, 34, 35, 56–58, 99, 108, 110, 111, 128, 132–134, 159–170], then rosacea-like demodicosis and PPR are probably two phenotypes of the same disease [10]. Indeed, the descriptions of demodicosis and rosacea seem to indicate two different approaches to the same condition (Table 1): their definitions cannot be compared because they are based on different criteria (etiological for demodicosis [101, 102] and clinical for rosacea [5, 6]); their symptoms are similar [10, 31] with no single criterion being specific for either and most patients presenting a mixture of characteristics that can be attributed to both of the entities [10]; they may occur successively in the same patient [10]; their histological characteristics are similar [31]; their *Demodex* densities are similar [10]; and both respond very well to acaricidal treatment, in terms of reduced *Demodex* densities and improved clinical symptoms [159, 160, 171, 172]. It is therefore increasingly difficult to defend the view that, in these two similar diseases, the exaggerated proliferation of parasites has a different role, causal in one and epiphenomenal in the other.

The *Demodex* mite is beginning to be accepted as one of the triggers that stimulates TLR2 at the start of the inflammatory cascade in rosacea [5, 14, 93, 123, 173], and as a marker of rosacea [174]: a clinical diagnosis of PPR may be confirmed by a diagnostic test based on the high *Demodex* density present in these patients, using two SSSBs taken from the same site. A superficial [SSSB1] *Demodex* density greater than 5 D/cm² OR a deep [SSSB2] *Demodex* density greater than 10 D/cm² enabled confirmation of a diagnosis of PPR (or demodicosis) with a sensitivity of 98.7% and a specificity of 95.5% [108].



◀ **Fig. 4** Overlap of the clinical entities pityriasis folliculorum (PF) and erythematotelangiectatic rosacea (ETR). **a** Schematic conceptualization of the overlap between PF and ETR. Most cases of “ETR according to the National Rosacea Society (NRS) definition” have follicular scales. Patients with the pure vascular form of rosacea (without increased *Demodex* density/follicular scales) or pure demodicosis (without persistent centrofacial erythema) are encountered less frequently. “PF with persistent erythema” and “ETR with follicular scales” are likely the same entity, with two possible modes of entry: (1) ETR, likely through VEGF, favors mite overproliferation [8, 10, 25, 27, 31, 57, 93–97], which in turn results in increased erythema as a result of inflammation; and (2) other factors favoring mite proliferation give rise initially to PF without erythema, but persistent erythema then develops as a result of the inflammation caused by the mites. **b** Some patients have persistent erythema without visible follicular scales, but nevertheless have high *Demodex* densities (Dd): they are considered to have subclinical demodicosis/subclinical pityriasis folliculorum, and so are included into the demodicosis group. **c** As a practical example of the schema in **b**, we provide the data from the 445 patients clinically diagnosed with pityriasis folliculorum and 23 patients clinically diagnosed with ETR from our recent studies [97, 99, 108]. According to the NRS definition, 332 of these 468 patients would have been diagnosed as ETR, of whom 309 (93%) had follicular scales. Clinically, among these 332 patients, we diagnosed only 23 patients as having ETR (without follicular scales) and 309 as having pityriasis folliculorum; only 13 had “pure” ETR, without *Demodex* proliferation detected. Patients with persistent erythema and high *Demodex* density (i.e., subclinical PF with erythema or clinical PF with erythema/ETR with follicular scales) were the most numerous ($319/468 = 68\%$). In real life, the proportion of patients with ETR without follicular scales is nevertheless certainly higher (“+++”) because in our studies these patients were only included when we had time to perform the SSSB, whereas all patients with follicular scales were included [97, 99, 108]

CURRENT TREATMENTS FOR VASCULAR SYMPTOMS OF ROSACEA: ACARICIDAL EFFECTS?

Light Therapies

Light-based treatments with (long) pulsed dye laser (PDL), neodymium-doped yttrium

aluminum garnet (Nd:YAG) laser, and intense pulsed light (IPL) target oxyhemoglobin in the vascular system [155], but may also have acaricidal actions in rosacea. PDL, which had earlier been reported to have limited value for treatment of papulopustules [175], was recently shown to decrease their number [176]; this action, as well as its effect on erythema, tended to be more marked when ivermectin was given topically at the same time [176]. Nd:YAG laser also acts on papulopustules but is more effective in ETR than in PPR [177]. These actions on the papulopustules may result from a potential acaricidal effect as a result of increasing skin temperature [178] and, for the Nd:YAG laser, by destruction of the follicular unit [177]. One study suggested that these therapies may therefore be used not only in ETR but also in demodicosis [178], although these findings need to be confirmed. Coagulation necrosis of the *Demodex* mites has been observed after IPL treatment; nevertheless, the mites recolonized the skin 1 month after the second treatment [179]. IPL reduced the risk of recurrence of PPR after oral acaricidal treatment [180, 181], which also supports a facilitating role of the vascular background on the proliferation of mites.

Paradoxically, if these light-based therapies are applied from the outset of treatment, they may cause an exacerbation of rosacea, probably related to the mass death of many *Demodex* mites, although not all, because some are still observed after treatment [182] (Fig. 1e, f). Patients should therefore be treated first with an acaricidal treatment, and then possibly by laser or IPL treatment [182].

Vasoconstrictors

Topical vasoconstrictors, such as α -blockers (brimonidine, oxymetazoline) [183, 184], are used to decrease vasodilation of the dermal capillaries for a limited time, and act mainly on erythema but not on telangiectasia [2]. They are mainly recommended after light therapy, when this is not completely successful [185]. To our knowledge, these treatments have no activity against the *Demodex* mite.

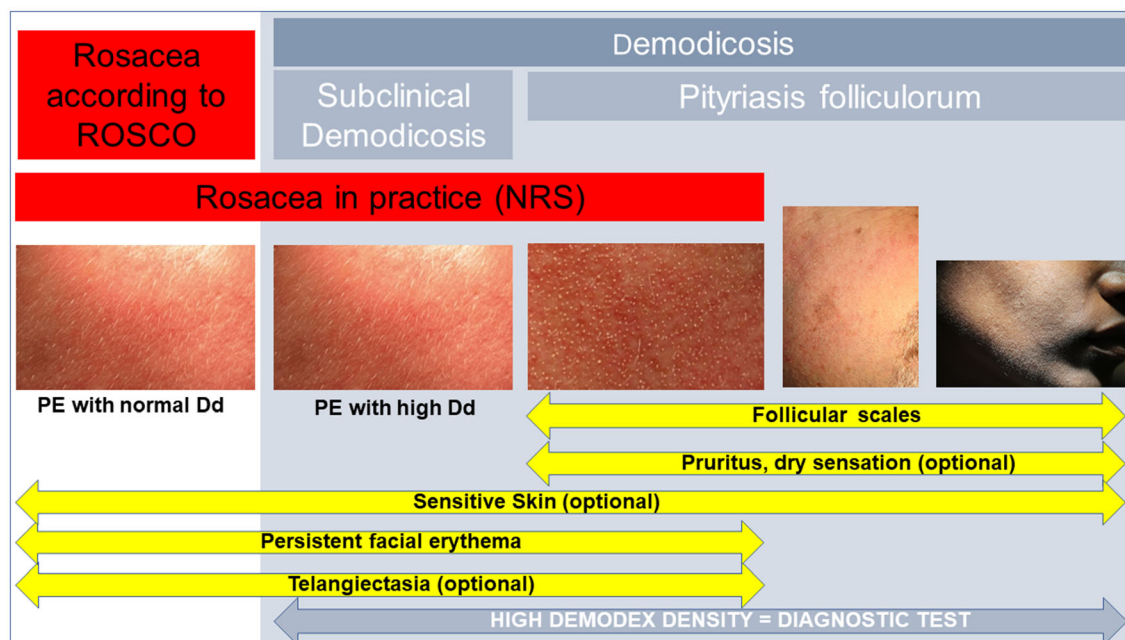


Fig. 5 Rosacea with only vascular symptoms and pityriasis folliculorum: overlaps and ambiguities in diagnostic criteria. According to the ROSacea COnsensus (ROSCO) panel, demodicosis must be excluded before making a diagnosis of rosacea [13], but it was not specified how this should be done; however, it can be assumed that the *Demodex* density must be normal. The latest National Rosacea Society (NRS) consensus seems not to take follicular scales into consideration to include or exclude a diagnosis of rosacea: the consequence is that patients with pityriasis folliculorum (and subclinical demodicosis) with vascular symptoms may therefore be (mis)diagnosed as

having rosacea with only vascular symptoms (ETR). However, pityriasis folliculorum is not always associated with ETR (the two photos on the right, on white skin and black skin). Of note, the photograph illustrating “Persistent erythema (PE) with normal *Demodex* density (Dd)” is the same as that of subclinical demodicosis “PE with high Dd” to stress that the clinical appearance/phenotypes of these conditions are identical. The patient with pityriasis folliculorum on black skin has provided written consent for publication

ACARICIDAL TREATMENTS

Case Reports

Multiple molecules have been reported to reduce the number or density of *Demodex* mites and improve or cure symptoms of demodicosis and rosacea in case studies.

Topical treatments have included sulfur or selenium (di)sulfide [75, 81, 101, 102, 105, 114, 115, 186–188], lindane (currently prohibited) [73, 74], yellow mercury oxide [189], malathion [72], metronidazole [190, 191], permethrin [71, 73, 192], pilocarpine [193, 194], benzyl benzoate [195], and combinations of some of these treatments

(also with crotamiton) [103, 196–199]. Oral treatments have included ivermectin (alone [200] or associated with topically administered crotamiton [201] or permethrin [202]) and metronidazole (alone [121, 203] or associated with topically administered metronidazole [197] or crotamiton [204]).

Some case reports in which these treatments were used also observed a clinical effect on lesions rich in *Demodex* but did not check that *Demodex* levels decreased after treatment [66–68, 70, 77, 120, 205–207].

Other case studies have reported no clinical effects of some of these treatments in demodicosis, e.g., permethrin [68, 203], crotamiton [70], topically administered [68, 70, 203] and

Table 1 Comparison between pityriasis folliculorum and erythematotelangiectatic rosacea (ETR), and between rosacea-like demodicosis and typical papulopustular rosacea (PPR)

	Pityriasis folliculorum	ETR according to NRS definition	References
Definition	Etiological	Clinical	[6, 101, 102, 105]
Cause	<i>Demodex</i> proliferation	Inflammatory reaction?	[6, 101, 102, 105]
<i>Demodex</i> density	Similar		[29, 109, 156]
Histology	Similar		[31]
Signs and symptoms	Similar, mixed forms are the most frequent		[6, 97], Fig. 4c
Main characteristic	Follicular scales	Persistent centrofacial erythema associated with periodic intensification by potential trigger factors	[6, 101, 102, 105]
Persistent erythema	Frequent	Always	[6], Fig. 4c
Follicular scales	Nearly always	Frequent	[99], Fig. 4c
Facial location	All	Central part	[6, 99, 101, 102, 105, 114]
Treatment	Acaricide	Light treatment, vasoconstrictors	
		Rosacea-like demodicosis	PPR according to NRS definition
Definition	Etiological		Clinical
Cause	<i>Demodex</i> proliferation		Inflammatory reaction? <i>Demodex</i> proliferation?
<i>Demodex</i> density	Similar, very high		[10]
Histology	Similar		[31]
Signs and symptoms	Similar, mixed forms are the most frequent		[10, 113]
Follicular scales	Similar		[99]
Skin	More dry		More greasy
Facial location	Central and lateral parts		Central part

Table 1 continued

	Rosacea-like demodicosis	PPR according to NRS definition	References
Persistent erythema	More unilateral Frequent	More bilateral Always	[71, 120, 201, 204, 207, 208] [6, 102, 105]
Flushes/erythema	Less intense	More intense	[6, 102, 105]
Papules and pustules	More superficial and smaller	Deeper and larger	[102, 105, 113]
Pruritus	Usually considered more frequent in demodicosis		[70, 72, 74, 79, 241, 242, 99]
Evolution over time	The 2 forms may occur successively in the same patient		[10]
Treatment	Often after pityriasis folliculorum Acaricide	More often after ETR than the reverse Anti-inflammatory, acaricide	[8, 57, 136]

orally administered [204, 208] metronidazole, and orally administered ivermectin [121].

Experimental and Clinical Studies

Some authors have studied the survival time of the *Demodex* mite in vitro [209–213]. Tea tree oil and its isolated active component were shown to have considerable acaricidal activity [117, 210–212]; although they have mainly been used in *Demodex* blepharitis [117, 214, 215], they therefore also seem to be a promising treatment to kill the mites in the facial skin [216]. A relatively crude in vitro experiment using different concentrations of metronidazole showed that *Demodex* mites survived at a concentration of 1 mg/ml, a level that cannot be obtained in vivo [213]: the authors therefore suggested that metronidazole may act not directly in vivo but via one of its metabolites [217]. In a randomized clinical study comparing six topical treatments, we found that metronidazole had no acaricidal activity as measured using *Demodex* densities [218]. In a single-blind randomized study comparing an oral metronidazole-based treatment with a treatment based on oral ornidazole administration (a metronidazole analogue with a longer half-life), ornidazole was more effective than metronidazole (in terms of *Demodex* counts and clinical symptoms) and associated with fewer relapses [180].

In a randomized study, oral metronidazole treatment increased the acaricidal action seen with orally administered ivermectin [219], although the acaricidal effects of orally administered ivermectin have never been confirmed, especially over the long term, likely because the treatment itself is very short (2 weeks).

An acaricidal effect of permethrin cream applied twice daily was reported in two controlled studies [220, 221], and this treatment was proposed as a valuable option in a recent review [222].

Our randomized clinical study comparing six topical treatments reported that benzyl benzoate had marked acaricidal action and cro-tamiton moderate action [218]. We recently demonstrated the short- and long-term actions

of benzyl benzoate (with crotamiton) on *Demodex* density and on clinical symptoms in a real-life study [159, 160]. In our practice, we successfully used benzyl benzoate (with crotamiton) cream for more than 20 years; however, the development of ivermectin has provided an effective alternative [172, 223, 224] with better tolerance and this is now our treatment of choice. Indeed, ivermectin was approved by the US Food and Drug Administration and the European Medicines Agency in 2014–2015 as a topical anti-inflammatory treatment for PPR as a 1% once daily application [225]. Ivermectin quickly became established, together with azelaic acid, as a first-line treatment for PPR in mild rosacea [2, 183, 184, 223, 226–229], and combined with orally administered doxycycline in moderate to severe rosacea [173, 230, 231]. However, its efficacy may, at least in part, be explained by its other important property: acaricidal effects against the *Demodex* mite [172, 173, 225, 228, 230, 232–236]. Indeed, two other acaricidal treatments which have no known anti-inflammatory properties also improve clinical symptoms of rosacea: permethrin (5% applied twice daily) improved the vascular component of rosacea (erythema [221], telangiectasia [220]), and benzyl benzoate was shown to be an effective treatment for PPR [159, 160]. These observations provide indirect support for the role of the mite in PPR, as already suggested by numerous other studies [8, 10, 29, 31, 34, 35, 56–58, 99, 108, 110, 111, 128, 132–134, 161–170].

Acaricidal Treatment for ETR?

Topical acaricidal treatment is certainly the most appropriate treatment for patients with pityriasis folliculorum with vascular symptoms/ETR with follicular scales: this therapy kills the mites and decreases subsequent inflammation and associated persistent erythema. In our experience, topical acaricidal treatment leads to disappearance of follicular scales [159, 160] as well as subjective complaints, such as burning sensation and hypersensitive skin. If only mild erythema is present, it may completely, or

almost completely, resolve after eradication of the mites, so that supplementary treatment (e.g., light therapy) may not be needed. More severe erythema generally just decreases a little in intensity, but the acaricidal treatment is nevertheless useful because subsequent light treatment may be better tolerated, without the potential for flare-ups [182].

Acaricidal treatment may also prevent the immunotolerance induced by the mite, and its subsequent overproliferation and ultimately the development of the papulopustules of rosacea, although further study is needed to confirm this hypothesis.

Because the distinction between ETR and pityriasis folliculorum is often not made, and even experienced dermatologists may miss subclinical demodicosis in about 40–50% of cases, a pragmatic approach may be to start treatment of all patients diagnosed with “ETR” with an acaricide (because many of them will have undiagnosed pityriasis folliculorum) for 2–4 months. A more scientific approach would be to measure the *Demodex* density in all patients with suspected ETR and start treatment with an acaricide only when the *Demodex* density is high and until the *Demodex* density normalizes (followed by a maintenance therapy). This can be managed easily in the clinic using two consecutive SSSBs as discussed earlier [108].

If future experimental studies confirm that VEGF collaborates with the mite to induce immunosuppression in rosacea, thus favoring *Demodex* proliferation, acaricidal treatment would then be clearly indicated in any patient with vascular symptoms of rosacea, and may contribute to prevent further evolution of ETR.

CONCLUSION

The interactions among VEGF, *Demodex*, and the immune system need further exploration and the nosology of rosacea would then need to be adapted accordingly. The effectiveness of treating any patient with ETR first with an acaricidal cream needs to be assessed in prospective controlled clinical trials with long-term follow-up. Currently, learning to distinguish patients with pityriasis folliculorum from those with

isolated ETR is crucial so that they can be managed appropriately with an acaricidal cream.

ACKNOWLEDGEMENTS

Funding. No funding was received for the study or publication of this article.

Authorship. All named authors meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship for this article, take responsibility for the integrity of the work as a whole, and have given their approval for this version to be published.

Medical Writing and Editorial Assistance. I thank Professor Sandra J. van Vliet (PhD, Department of Molecular Cell Biology and Immunology, Amsterdam UMC, PO Box 7057, 1007 MB Amsterdam, the Netherlands) for help with preparing Fig. 3, and Dr. K Pickett for editorial assistance.

Disclosures. Dr. Fabienne Forton occasionally works as a consultant for Galderma and has occasionally received payment for this work.

Compliance with Ethics Guidelines. This article is based on previously conducted studies and does not contain any new studies with human participants or animals performed by the author.

Data Availability. Data sharing is not applicable to this article as no datasets were generated or analyzed during the current study.

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International License, which permits any non-commercial use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material

in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

REFERENCES

1. Tan J, Schöfer H, Araviiskaia E, et al. Prevalence of rosacea in the general population of Germany and Russia—the RISE study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016;30:428–34.
2. Cribier B. Rosacée: nouveautés pour une meilleure prise en charge. *Ann Dermatol Venereol.* 2017;144: 508–17.
3. Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol.* 1989;69:419–23.
4. Gether L, Overgaard LK, Egeberg A, Thyssen JP. Incidence and prevalence of rosacea: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2018;179: 282–9.
5. Buddenkotte J, Steinhoff M. Recent advances in understanding and managing rosacea. *F1000Res.* 2018;7:F1000 Faculty Rev-1885.
6. Gallo RL, Granstein RD, Kang S, et al. Standard classification and pathophysiology of rosacea: the 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78:148–55.
7. Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol.* 2014;170: 1219–25.
8. Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC, et al. Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29: 829–32.
9. Powell FC. Rosacea. In: Griffiths C, Barker J, Bleiker TO, Chalmers R, Creamer D, editors. *Rook's textbook of dermatology.* 9th ed. 2016. Chichester: Wiley; p. 1–20.
10. Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two

- phenotypes of the same disease? J Eur Acad Dermatol Venereol. 2018;32:1011–6.
11. Saleem MD. Revisiting rosacea criteria. Dermatol Clin. 2018;36:161–5.
 12. Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. J Am Acad Dermatol. 2002;46:584–7.
 13. Tan J, Almeida LMC, Bewley A, et al. Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROSacea COnsensus (ROSCO) panel. Br J Dermatol. 2017;176:431–8.
 14. Gerber PA, Buhren BA, Steinhoff M, Homey B. Rosacea: the cytokine and chemokine network. J Investig Dermatol Symp Proc. 2011;15:40–7.
 15. Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. Nat Med. 2007;13:975–80.
 16. Yamasaki K, Gallo RL. The molecular pathology of rosacea. J Dermatol Sci. 2009;55:77–81.
 17. Yamasaki K, Gallo RL. Rosacea as a disease of cathelicidins and skin innate immunity. J Investig Dermatol Symp Proc. 2011;15:12–5.
 18. Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. J Investig Dermatol. 2011;131:688–97.
 19. Park K, Elias PM, Oda Y, et al. Regulation of cathelicidin antimicrobial peptide expression by an endoplasmic reticulum (ER) stress signaling, vitamin D receptor-independent pathway. J Biol Chem. 2011;286:34121–30.
 20. Kulkarni NN, Takahashi T, Sanford JA, et al. Innate immune dysfunction in rosacea promotes photosensitivity and vascular adhesion molecule expression. J Invest Dermatol. 2020;140(645–655):e6.
 21. Salzer S, Kresse S, Hirai Y, et al. Cathelicidin peptide LL-37 increases UVB-triggered inflammasome activation: possible implications for rosacea. J Dermatol Sci. 2014;76:173–9.
 22. Muto Y, Wang Z, Vanderberghe M, Two A, Gallo RL, Di Nardo A. Mast cells are key mediators of cathelicidin-initiated skin inflammation in rosacea. J Investig Dermatol. 2014;134:2728–36.
 23. Aldrich N, Gerstenblith M, Fu P, et al. Genetic vs environmental factors that correlate with rosacea: a cohort-based survey of twins. JAMA Dermatol. 2015;151:1213.
 24. Holmes AD, Spöndlin J, Chien AL, Baldwin H, Chang ALS. Evidence-based update on rosacea comorbidities and their common physiologic pathways. J Am Acad Dermatol. 2018;78:156–66.
 25. Aroni K, Tsagrani E, Lazaris AC, Patsouris E, Agapitos E. Rosacea: a clinicopathological approach. Dermatology. 2004;209:177–82.
 26. Goma AHA, Yaar M, Eyada MMK, Bhawan J. Lymphangiogenesis and angiogenesis in non-phy-matous rosacea. J Cutan Pathol. 2007;34:748–53.
 27. Cribier B. Pathophysiology of rosacea: redness, telangiectasia, and rosacea. Ann Dermatol Venereol. 2011;138:S184–91.
 28. Schwab VD, Sulk M, Seeliger S, et al. Neurovascular and neuroimmune aspects in the pathophysiology of rosacea. J Investig Dermatol Symp Proc. 2011;15:53–62.
 29. Casas C, Paul C, Lahfa M, et al. Quantification of Demodex folliculorum by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. Exp Dermatol. 2012;21:906–10.
 30. Marks R, Harcourt-Webster JN. Histopathology of rosacea. Arch Dermatol. 1969;100:683–91.
 31. Cribier B. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013;27:1336–43.
 32. Powell FC. The histopathology of rosacea: ‘where’s the beef?’ Dermatology. 2004;209:173–4.
 33. Lee SH, Lee SB, Heo JH, et al. Sebaceous glands participate in the inflammation of rosacea. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020;34:e144–6.
 34. Georgala S, Katoulis A, Kylafis G, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of Demodex folliculorum and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2001;15:441–4.
 35. Ruffi T, Büchner SA. T-cell subsets in acne rosacea lesions and the possible role of *Demodex folliculorum*. Dermatology. 1984;169:1–5.
 36. Dajnoki Z, Béke G, Kapitány A, et al. Sebaceous gland-rich skin is characterized by TSLP expression and distinct immune surveillance which is disturbed in rosacea. J Investig Dermatol. 2017;137:1114–25.

37. Buhl T, Sulk M, Nowak P, et al. Molecular and morphological characterization of inflammatory infiltrate in rosacea reveals activation of Th1/Th17 pathways. *J Investig Dermatol.* 2015;135:2198–208.
38. Brown TT, Choi E-YK, Thomas DG, Hristov AC, Chan MP. Comparative analysis of rosacea and cutaneous lupus erythematosus: histopathologic features, T-cell subsets, and plasmacytoid dendritic cells. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71:100–7.
39. Roihu T, Kariniemi A-L. Demodex mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol.* 1998;25:550–2.
40. Helm KF, Menz J, Gibson LE, Dicken CH. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 1991;25:1038–43.
41. Basta-Juzbasić A, Marinović T, Dobrić I, Bolanca-Bumber S, Sencar J. The possible role of skin surface lipid in rosacea with epitheloid granulomas. *Acta Med Croatica.* 1992;46:119–23.
42. Fuss F. La vie parasitaire du *Demodex folliculorum* hominis. *Ann Derm Syph (Paris).* 1933;4:1053–62.
43. Hellerich U, Metzelder M. Incidence of scalp involvement by *Demodex folliculorum* Simon ectoparasites in a pathologic-anatomic and forensic medicine autopsy sample. *Arch Kriminol.* 1994;194:111–8.
44. Ruffi T, Mumcuoglu Y. The hair follicle mites *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis*: biology and medical importance. *Dermatology.* 1981;162:1–11.
45. Riechers R, Kopf AW. Cutaneous infestation with *Demodex folliculorum* in man. *J Invest Dermatol.* 1969;52:103–6.
46. Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol.* 1976;15:79–98.
47. Thoenes MS, Fergus DJ, Urban J, Trautwein M, Dunn RR. Ubiquity and diversity of human-associated *Demodex* mites. *PLoS One.* 2014;9:e106265.
48. Desch C, Nutting WB. *Demodex folliculorum* (Simon) and *D. brevis* akbulatova of man: redescription and reevaluation. *J Parasitol.* 1972;58:169–77.
49. Norm MS. *Demodex folliculorum*. Incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull.* 1971;18:14–7.
50. Du Bois C. Recherche du *Demodex folliculorum* hominis dans la peau saine. *Ann Dermatol Syph.* 1910;1:188–90.
51. Zhao Y, Guo N, Xun M, Xu J, Wang M, Wang D. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of *Demodex* infestation (Acari: Demodicidae). *J Zhejiang Univ Sci B.* 2011;12:998–1007.
52. Nutting WB, Green AC. Pathogenesis associated with hair follicle mites (*Demodex* spp.) in Australian Aborigines. *Br J Dermatol.* 1976;94:307–12.
53. Nutting WB, Beerman H. Demodicosis and symbiophobia: status, terminology, and treatments. *Int J Dermatol.* 1983;22:13–7.
54. Gmeiner F. *Demodex folliculorum* des Menschen und der Tiere. *Arch Derm Syphilol.* 1908;92:25–96.
55. Palopoli MF, Fergus DJ, Minot S, et al. Global divergence of the human follicle mite *Demodex folliculorum*: persistent associations between host ancestry and mite lineages. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112:15958–63.
56. Forton F, Germaux M-A, Brasseur T, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52:74–87.
57. Forton FMN. Papulopustular rosacea, skin immunity and *Demodex*: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;26:19–28.
58. Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. *Demodex* mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol.* 2018;179:420–30.
59. Akilov O, Mumcuoglu K. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004;18:440–4.
60. Foley R, Kelly P, Gatault S, Powell F. *Demodex*: a skin resident in man and his best friend. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020. <https://doi.org/10.1111/jdv.16461>.
61. Seyhan M, Karıncaoglu Y, Bayram N, Aycan O, Kuku I. Density of *Demodex folliculorum* in haematological malignancies. *J Int Med Res.* 2004;32:411–5.
62. Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N, Aycan O, Taskapan H. Incidence of *Demodex folliculorum* in patients with end stage chronic renal failure. *Ren Fail.* 2005;27:495–9.
63. Sanchez-Viera M, Hernanz JM, Sampelayo T, Gurbindo MD, Lecona M, Soto-Melo J. Granulomatous rosacea in a child infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Acad Dermatol.* 1992;27:1010–1.
64. Sahn EE, Sheridan DM. Demodicosis in a child with leukemia. *J Am Acad Dermatol.* 1992;27:799–801.

65. Barrio J, Lecona M, Hernanz JM, et al. Rosacea-like demodicosis in an HIV-positive child. *Dermatology (Basel)*. 1996;192:143–5.
66. Benessahraoui M, Paratte F, Plouvier E, Humbert P, Aubin F. Demodicidosis in a child with xantholeukaemia associated with type 1 neurofibromatosis. *Eur J Dermatol*. 2003;13:311–2.
67. Morrás PG, Santos SP, Imedio IL, Echeverría ML, Hermosa JMH. Rosacea-like demodicidosis in an immunocompromised child. *Pediatr Dermatol*. 2003;20:28–30.
68. Herron MD, O'reilly MA, Vanderhooft SL. Refractory Demodex folliculitis in five children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Dermatol*. 2005;22:407–11.
69. Damian D, Rogers M. Demodex infestation in a child with leukaemia: treatment with ivermectin and permethrin. *Int J Dermatol*. 2003;42:724–6.
70. Bañuls J, Ramon D, Aniz E, Jorda E, Torres V. Papular pruritic eruption with human immunodeficiency virus infection. *Int J Dermatol*. 1991;30:801–3.
71. Jansen T, Kastner U, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea-like demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Br J Dermatol*. 2001;144:139–42.
72. de Jaureguiberry JP, Carsuzaa F, Pierre C, Arnoux D, Jaubert D. Demodex folliculitis: a cause of pruritus in human immunodeficiency virus infection. *Ann Med Interne (Paris)*. 1993;144:63–4.
73. Dominey A, Rosen T, Tschen J. Papulonodular demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1989;20:197–201.
74. Ashack RJ, Frost ML, Norins AL. Papular pruritic eruption of Demodex folliculitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1989;21:306–7.
75. Nakagawa T, Sasaki M, Fujita K, Nishimoto M, Takaiwa T. Demodex folliculitis on the trunk of a patient with mycosis fungoides. *Clin Exp Dermatol*. 1996;21:148–50.
76. Redondo Mateo J, Soto Guzmán O, Fernández Rubio E, Domínguez FF. Demodex-attributed rosacea-like lesions in AIDS. *Acta Derm Venereol*. 1993;73:437.
77. Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-responsive Demodex infestation during human immunodeficiency virus infection. *Dermatology*. 2002;205:394–7.
78. Patrizi A, Trestini D, D'Antuono A, Colangeli V. Demodicidosis in a child infected with acquired immunodeficiency virus. *Eur J Pediatr Dermatol*. 1999;9:25–8.
79. Duvic M. Staphylococcal infections and the pruritus of AIDS-related complex. *Arch Dermatol*. 1987;123:1599.
80. Girault C, Borsa-Lebas F, Lecomte F, Humbert G. Papulonodular eruption. Demodicidosis in acquired immunodeficiency syndrome. *Presse Med*. 1991;20:177.
81. Sarro RA, Hong JJ, Elgart ML. An unusual demodicidosis manifestation in a patient with AIDS. *J Am Acad Dermatol*. 1998;38:120–1.
82. Antille C, Saurat J-H, Lübke J. Induction of rosaceaiform dermatitis during treatment of facial inflammatory dermatoses with tacrolimus ointment. *Arch Dermatol*. 2004;140:457–60.
83. Lübke J, Stucky L, Saurat J-H. Rosaceaiform dermatitis with follicular Demodex after treatment of facial atopic dermatitis with 1% pimecrolimus cream. *Dermatology*. 2003;207:205–7.
84. Kaya OA, Akkucuk S, Ilhan G, Guneri CO, Mumcuoglu K. The importance of Demodex mites (Acari: Demodicidae) in patients with sickle cell anemia. *J Med Entomol*. 2019;56:599–602.
85. Kaya S, Selimoglu MA, Kaya OA, Ozgen U. Prevalence of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in childhood malnutrition and malignancy: *Demodex* in malnutrition and malignancy. *Pediatr Int*. 2013;55:85–9.
86. Gerber PA, Kukova G, Buhren BA, Homey B. Density of *Demodex folliculorum* in patients receiving epidermal growth factor receptor inhibitors. *Dermatology*. 2011;222:144–7.
87. Molho-Pessach V, Meltser A, Kamshov A, Ramot Y, Zlotogorski A. *STAT1* gain-of-function and chronic demodicosis. *Pediatr Dermatol*. 2020;37:153–5.
88. Sáez-de-Ocariz M, Suárez-Gutiérrez M, Migaud M, et al. Rosacea as a striking feature in family members with a *STAT1* gain-of-function mutation. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(6):e265–7.
89. Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu A, Harman M, Alp S, Bahceci S. Is Demodex folliculorum larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2002;16:539–41.
90. Clifford CW, Fulk GW. Association of diabetes, lash loss, and *Staphylococcus aureus* with infestation of eyelids by *Demodex folliculorum* (Acari: Demodicidae). *J Med Entomol*. 1990;27:467–70.

91. Gökçe C, Aycan-Kaya Ö, Yula E, et al. The effect of blood glucose regulation on the presence of opportunistic *Demodex folliculorum* mites in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res*. 2013;41:1752–8.
92. Keskin Kurt R, Aycan Kaya O, Karateke A, et al. Increased density of *Demodex folliculorum* mites in pregnancies with gestational diabetes. *Med Princ Pract*. 2014;23:369–72.
93. Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72:749–58.
94. Perrigouard C, Peltre B, Cribier B. A histological and immunohistological study of vascular and inflammatory changes in rosacea. *Ann Dermatol Venereol*. 2013;140:21–9.
95. Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, Falay T, Inan Yuksel E, Sarikaya E. Demodex mites in acne rosacea: reflectance confocal microscopic study. *Australas J Dermatol*. 2017;58:e26–30.
96. Katz AM. Rosacea: epidemiology and pathogenesis. *J Cutan Med Surg*. 1998;2(Suppl 4):5–10.
97. Forton F, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case–control study. *Br J Dermatol*. 2019;181:818–25.
98. Zhao Y, Peng Y, Wang X, et al. Facial dermatosis associated with Demodex: a case-control study. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011;12:1008–15.
99. Forton FMN, De Maertelaer V. Rosacea and demodicosis: little-known diagnostic signs and symptoms. *Acta Derm Venereol*. 2019b;99:47–52.
100. Crosti C, Menni S, Sala F, Piccinno R. Demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. *J Cutan Pathol*. 1983;10:257–61.
101. Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Derm Syphilol*. 1930;21:19–24.
102. Ayres S. demodectic eruptions (demodicidosis) in the human: 30 years' experience with 2 commonly unrecognized entities: pityriasis folliculorum (Demodex) and acne rosacea (Demodex type). *Arch Dermatol*. 1961;83:816.
103. Dominey A, Tschen J, Rosen T, Batres E, Stern JK. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol*. 1989;21:81–4.
104. Hsu C-K, Hsu MM-L, Lee JY-Y. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:453–62.
105. Ayres S. Rosacea and rosacea-like demodicidosis. *Int J Dermatol*. 1987;26:198–9.
106. Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, et al. Reflectance confocal microscopy vs. standardized skin surface biopsy for measuring the density of Demodex mites. *Skin Res Technol*. 2014;20:435–9.
107. Yun CH, Yun JH, Baek JO, Roh JY, Lee JR. Demodex mite density determinations by standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination and their relations with clinical types and distribution patterns. *Ann Dermatol*. 2017;29:137.
108. Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol*. 2017;97:242–8.
109. Forton FMN. Elucidating the role of *Demodex folliculorum* in the pathogenesis of rosacea: exciting first steps.... *Br J Dermatol*. 2018;179:252–3.
110. Forton F. Demodex and perifollicular inflammation in man: review and report of 69 biopsies. *Ann Dermatol Venereol*. 1986;113:1047–58.
111. Forton F, De Maertelaer V. Rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease, and pityriasis folliculorum may be their precursor: response to the comment of Tatu. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019c;33:e47–8.
112. Tatu AL, Clatici VG, Nwabudike LC. Rosacea-like demodicosis (but not primary demodicosis) and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease—a microbioma, therapeutic and diagnostic tools perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33:e46–7.
113. Ayres S. Rosacea-like demodicidosis. *Calif Med*. 1963;98:328–30.
114. Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. A case report. *Arch Dermatol*. 1967;95:63–6.
115. Post CF, Juhlin E. Demodex folliculorum and blepharitis. *Arch Dermatol*. 1963;88:298–302.
116. Morgan RJ, Coston TO. Demodex blepharitis. *South Med J*. 1964;57:694–9.
117. Kim JH, Chun YS, Kim JC. Clinical and immunological responses in ocular demodecosis. *J Korean Med Sci*. 2011;26:1231–7.
118. Liu J, Sheha H, Tseng SCG. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10:505–10.

119. Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. J Am Acad Dermatol. 1986;15:1159–62.
120. Eismann R, Bramsiede I, Danz B, Wohlrab J, Marsch WC, Fiedler E. Abscessing nodular demodicosis—therapy with ivermectin and permethrin. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2010;24:79–81.
121. Schaller M, Sander CA, Plewig G. Demodex abscesses: clinical and therapeutic challenges. J Am Acad Dermatol. 2003;49:272–4.
122. Seifert HW. Demodex folliculorum causing solitary tuberculoid granuloma. Z Hautkr. 1978;53:540–2.
123. Woo Y, Lim J, Cho D, Park H. Rosacea: molecular mechanisms and management of a chronic cutaneous inflammatory condition. Int J Mol Sci. 2016;17:1562.
124. Thyssen JP. Are Demodex mites the best target for rosacea treatments? Br J Dermatol. 2019;181:652–3.
125. Baima B, Sticherling M. Demodicidosis revisited. Acta Derm Venereol. 2002;82:3–6.
126. Holmes AD. Potential role of microorganisms in the pathogenesis of rosacea. J Am Acad Dermatol. 2013;69:1025–32.
127. Vemuri RC, Gundamaraju R, Sekaran SD, Manikam R. Major pathophysiological correlations of rosacea: a complete clinical appraisal. Int J Med Sci. 2015;12:387–96.
128. Grosshans E, Kremer M, Maleville J, Wanner R. Du rôle des Demodex folliculorum dans l'histogénèse de la rosacée granulomateuse. Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr. 1972;79:639–46.
129. Amichai B, Grunwald MH, Avinoach I, Halevy S. Granulomatous rosacea associated with *Demodex folliculorum*. Int J Dermatol. 1992;31:718–9.
130. Ecker RI, Winkelmann RK. Demodex granuloma. Arch Dermatol. 1979;115:343–4.
131. Kharfi M, Zarrouk H, Nikkels A, et al. Granulomatous rosacea and demodicidosis. Afr J Dermatol. 1991;4:39–43.
132. Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. Br J Dermatol. 1993;128:650–9.
133. Erbagci Z, Özgöztaşı O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. Int J Dermatol. 1998;37:421–5.
134. Chang Y-S, Huang Y-C. Role of Demodex mite infestation in rosacea: a systematic review and meta-analysis. J Am Acad Dermatol. 2017;77:441–7.
135. Jarmuda S, McMahon F, Żaba R, et al. Correlation between serum reactivity to Demodex-associated Bacillus oleronius proteins, and altered sebum levels and Demodex populations in erythematotelangiectatic rosacea patients. J Med Microbiol. 2014;63:258–62.
136. Tan J, Blume-Peytavi U, Ortonne JP, et al. An observational cross-sectional survey of rosacea: clinical associations and progression between subtypes. Br J Dermatol. 2013;169:555–62.
137. Parodi A, Guarrera M, Rebora A. Flushing in rosacea: an experimental approach. Arch Dermatol Res. 1980;269:269–73.
138. Guzman-Sanchez DA, Ishiujii Y, Patel T, Fountain J, Chan YH, Yosipovitch G. Enhanced skin blood flow and sensitivity to noxious heat stimuli in papulopustular rosacea. J Am Acad Dermatol. 2007;57:800–5.
139. Voron T, Marcheteau E, Pernot S, et al. Control of the immune response by pro-angiogenic factors. Front Oncol. 2014;4:70.
140. Voron T, Tartour É, Taieb J, Terme M. Rôle du VEGF dans l'épuisement des lymphocytes T intratumoraux. Med Sci (Paris). 2015;31:473–5.
141. Smith JR, Lanier VB, Brazier RM, Falkenhagen KM, White C, Rosenbaum JT. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in rosacea. Br J Ophthalmol. 2007;91:226–9.
142. Gazi U, Gureser AS, Oztekin A, et al. Skin-homing T-cell responses associated with Demodex infestation and rosacea. Parasite Immunol. 2019;41:e12658.
143. Fornasa G, Tsilingiri K, Caprioli F, et al. Dichotomy of short and long thymic stromal lymphopoietin isoforms in inflammatory disorders of the bowel and skin. J Allergy Clin Immunol. 2015;136:413–22.
144. Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, et al. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potentially activates mast cells. J Exp Med. 2007;204:253–8.
145. Sim WJ, Ahl PJ, Connolly JE. Metabolism is central to tolerogenic dendritic cell function. Mediat Inflamm. 2016;2016:2636701.
146. Hong JS, Han S, Lee JS, et al. Abnormal glucocorticoid synthesis in the lesional skin of

- erythematotelangiectatic rosacea. *J Investig Dermatol.* 2019;139(2225–2228):e3.
147. Kanitakis J, Al-Rifai I, Faure M, Claudy A. Demodex mites of human skin express Tn but not T (Thomsen-Friedenreich) antigen immunoreactivity. *J Cutan Pathol.* 1997;24:454–5.
 148. Zaal A, Li RJE, Lübbbers J, et al. Activation of the C-type lectin MGL by terminal GalNAc ligands reduces the glycolytic activity of human dendritic cells. *Front Immunol.* 2020;11:305.
 149. van Vliet SJ, van Liempt E, Geijtenbeek TBH, van Kooyk Y. Differential regulation of C-type lectin expression on tolerogenic dendritic cell subsets. *Immunobiology.* 2006;211:577–85.
 150. van Vliet SJ, Gringhuis SI, Geijtenbeek TBH, van Kooyk Y. Regulation of effector T cells by antigen-presenting cells via interaction of the C-type lectin MGL with CD45. *Nat Immunol.* 2006;7:1200–8.
 151. van Vliet SJ, Bay S, Vuist IM, et al. MGL signaling augments TLR2-mediated responses for enhanced IL-10 and TNF- α secretion. *J Leukoc Biol.* 2013;94:315–23.
 152. Li D, Romain G, Flamar A-L, et al. Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4+ T cells. *J Exp Med.* 2012;209:109–21.
 153. Ferrer L, Ravera I, Silbermayr K. Immunology and pathogenesis of canine demodicosis. *Vet Dermatol.* 2014;25:427–e65.
 154. Bates J, Diehl L. Dendritic cells in IBD pathogenesis: an area of therapeutic opportunity? *J Pathol.* 2014;232:112–20.
 155. Marson JW, Baldwin HE. Rosacea: a wholistic review and update from pathogenesis to diagnosis and therapy. *Int J Dermatol.* 2019;59(6):e175–82.
 156. Huang H-P, Hsu C-K, Lee JY-Y. Thumbnail-squeezing method: an effective method for assessing Demodex density in rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34:e343–5.
 157. Sibenge S, Gawkrödger DJ. Rosacea: a study of clinical patterns, blood flow, and the role of *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol.* 1992;26:590–3.
 158. Saleem MD, Wilkin JK. Evaluating and optimizing the diagnosis of erythematotelangiectatic rosacea. *Dermatol Clin.* 2018;36:127–34.
 159. Forton FMN, De Maertelaer V. Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34:365–9.
 160. Forton FMN, De Maertelaer V. Effectiveness of benzyl benzoate treatment on clinical symptoms and Demodex density over time in patients with rosacea and demodicosis: a real life retrospective follow-up study comparing low- and high-dose regimens. *J Dermatolog Treat.* 2020;1–28. <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1770168>.
 161. Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 1993;28:443–8.
 162. Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol.* 1997;27:183–95.
 163. el-Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Aaty HE. The pathogenesis of Demodex folliculorum (hair follicular mites) in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol.* 2001;31:867–75.
 164. Zhao YE, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between Demodex infestation and rosacea. *Arch Dermatol.* 2010;146:896–902.
 165. Falay Gur T, Erdemir AV, Gurel MS, Kocyigit A, Guler EM, Erdil D. The investigation of the relationships of Demodex density with inflammatory response and oxidative stress in rosacea. *Arch Dermatol Res.* 2018;310:759–67.
 166. Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, Ruzicka T, Berking C. Noninvasive in vivo detection and quantification of *Demodex* mites by confocal laser scanning microscopy: quantification of *Demodex* mites by CLSM. *Br J Dermatol.* 2012;167:1042–7.
 167. Tsutsumi Y. Deposition of IgD, alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin on *Demodex folliculorum* and *D. brevis* infesting the pilosebaceous unit. *Pathol Int.* 2004;54:32–4.
 168. Bonamigo R, Bakos L, Edelweiss M, Cartell A. Could matrix metalloproteinase-9 be a link between *Demodex folliculorum* and rosacea? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005;19:646–7.
 169. Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. *Demodex folliculorum* and the histogenesis of granulomatous rosacea. *Hautarzt.* 1974;25:166–77.
 170. Aylesworth R, Vance JC. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol.* 1982;7:583–9.
 171. Darji K, Burkemper NM. Pityriasis folliculorum: response to topical ivermectin. *J Drugs Dermatol.* 2017;16:1290–2.

172. Schaller M, Gonser L, Belge K, et al. Dual anti-inflammatory and anti-parasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31:1907–11.
173. Steinhoff M, Vocanson M, Voegel JJ, Hacini-Rachinel F, Schäfer G. Topical ivermectin 10 mg/g and oral doxycycline 40 mg modified-release: current evidence on the complementary use of anti-inflammatory rosacea treatments. *Adv Ther*. 2016;33:1481–501.
174. Gallo RL, Granstein RD, Kang S, et al. Rosacea comorbidities and future research: the 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78:167–70.
175. Berg M, Edström DW. Flashlamp pulsed dye laser (FPDL) did not cure papulopustular rosacea. *Lasers Surg Med*. 2004;34:266–8.
176. Osman M, Shokeir HA, Hassan AM, Atef Khalifa M. Pulsed dye laser alone versus its combination with topical ivermectin 1% in treatment of Rosacea: a randomized comparative study. *J Dermatolog Treat*. 2020;1–7. <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1737636>.
177. Say EM, Okan G, Gökdemir G. Treatment outcomes of long-pulsed Nd:YAG laser for two different subtypes of rosacea. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2015;8:16–20.
178. Ertaş R, Yaman O, Akkuş MR, et al. The rapid effect of pulsed dye laser on Demodex density of facial skin. *J Cosmet Laser Ther*. 2019;21:123–6.
179. Prieto VG, Sadick NS, Lloreta J, Nicholson J, Shea CR. Effects of intense pulsed light on sun-damaged human skin, routine, and ultrastructural analysis. *Lasers Surg Med*. 2002;30:82–5.
180. Luo Y, Sun Y-J, Zhang L, Luan X-L. Treatment of mites folliculitis with an ornidazole-based sequential therapy: a randomized trial. *Medicine*. 2016;95:e4173.
181. Luo Y, Luan X-L, Zhang J-H, Wu L-X, Zhou N. Improved telangiectasia and reduced recurrence rate of rosacea after treatment with 540 nm-wavelength intense pulsed light: a prospective randomized controlled trial with a 2-year follow-up. *Exp Ther Med*. 2020;19:3543–50.
182. Wang P, Zhang L, Shi L, Yuan C, Zhang G, Wang X. Latent Demodex infection contributes to intense pulsed light aggravated rosacea: cases serial. *J Cosmet Laser Ther*. 2019;21:163–5.
183. van Zuuren EJ. Rosacea. *N Engl J Med*. 2017;377:1754–64.
184. van Zuuren EJ, Fedorowicz Z, Tan J, et al. Interventions for rosacea based on the phenotype approach: an updated systematic review including GRADE assessments. *Br J Dermatol*. 2019;181:65–79.
185. Del Rosso JQ, Tanghetti E, Webster G, Stein Gold L, Thiboutot D, Gallo RL. Update on the management of rosacea from the American Acne & Rosacea Society (AARS). *J Clin Aesthet Dermatol*. 2019;12:17–24.
186. Ayres S, Anderson NP. Acne rosacea: response to local treatment for Demodex folliculorum. *JAMA*. 1933;100:645–7.
187. Hojyo Tomoka MT, Dominguez Soto L. Demodectidosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cutan Ibero Lat Am*. 1976;4:83–90.
188. Ayres S, Mihan R. Demodex granuloma. *Arch Dermatol*. 1979;115:1285–6.
189. Pietrini P, Favennec L, Brasseur P. Demodex folliculorum in parakeratosis of the scalp in a child. *Parasite*. 1995;2:94.
190. Patrizi A, Neri I, Chieregato C, Misciali M. Demodectidosis in immunocompetent young children: report of eight cases. *Dermatology (Basel)*. 1997;195:239–42.
191. Junk AK, Lukacs A, Kampik A. Topical administration of metronidazole gel as an effective therapy alternative in chronic Demodex blepharitis—a case report. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1998;213:48–50.
192. Ivy SP, Mackall CL, Gore L, Gress RE, Hartley AH. Demodectidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia; an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr*. 1995;127:751–4.
193. Fulk GW, Murphy B, Robins MD. Pilocarpine gel for the treatment of demodectidosis—a case series. *Optom Vis Sci*. 1996;73:742–5.
194. Celorio J, Fariza-Guttmann E, Morales V. Pilocarpine as a coadjuvant treatment of blepharoconjunctivitis caused by Demodex folliculorum. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1988;30(suppl):40.
195. Harmelin Y, Delaunay P, Erfan N, Tsilika K, Zorzi K, Passeron T, Lacour JP, Bahadoran P. Interest of confocal laser scanning microscopy for the diagnosis and treatment monitoring of demodectidosis. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2014; 28(2):255–7.
196. Rufli T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S. *Demodex folliculorum*: aetiopathogenesis and therapy of rosacea and perioral dermatitis (author's transl). *Dermatologica*. 1981;162:12–26.

197. Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol*. 1995;133:294–9.
198. Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. *Demodex folliculorum* ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol*. 1981;116:489–91.
199. De Dulanto F, Camacho-Martinez F. Demodicidosis gravis. *Ann Dermatol Venereol*. 1979;106:699–704.
200. Forstinger C, Kittler H, Binder M. Treatment of rosacea-like demodicidosis with oral ivermectin and topical permethrin cream. *J Am Acad Dermatol*. 1999;41:775–7.
201. Kito Y, Hashizume H, Tokura Y. Rosacea-like demodicosis mimicking cutaneous lymphoma. *Acta Derm Venerol*. 2012;92:169–70.
202. García-Vargas A, Mayorga-Rodríguez JA, Sandoval-Tress C. Scalp demodicidosis mimicking favus in a 6-year-old boy. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57:S19–21.
203. Aydogan K, Alver O, Tore O, Karadogan S. Facial abscess-like conglomerates associated with *Demodex* mites. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2006;20(8):1002–4.
204. Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 1989;20:915–7.
205. Bikowski JB, Del Rosso JQ. *Demodex* dermatitis: a retrospective analysis of clinical diagnosis and successful treatment with topical crotamiton. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2009;2:20–5.
206. Brown M, Hernández-Martín A, Clement A, Colmenero I, Torrelo A. Severe *Demodex folliculorum*-associated oculocutaneous rosacea in a girl successfully treated with ivermectin. *JAMA Dermatol*. 2014;150:61.
207. Vashisht D, Singh J, Baveja S, Tiwari R, Bhatnagar A. Unilateral demodicidosis of face mimicking Hansen disease. *Dermatol Reports*. 2016;8:6891.
208. Pallotta S, Cianchini G, Martelloni E, et al. Unilateral demodicidosis. *Eur J Dermatol*. 1998;8:191–2.
209. Norn MS. *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1970;108:7–85.
210. Gao Y-Y, Di Pascuale MA, Li W, et al. In vitro and in vivo killing of ocular *Demodex* by tea tree oil. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:1468–73.
211. Kabat AG. In vitro demodicidal activity of commercial lid hygiene products. *Clin Ophthalmol*. 2019;13:1493–7.
212. Tighe S, Gao Y-Y, Tseng SCG. Terpinen-4-ol is the most active ingredient of tea tree oil to kill *Demodex* mites. *Trans Vis Sci Tech*. 2013;2:2.
213. Persi A, Rebora A. Metronidazole and *Demodex folliculorum*. *Acta Derm Venereol*. 1981;61:182–3.
214. Koo H, Kim TH, Kim KW, Wee SW, Chun YS, Kim JC. Ocular surface discomfort and *Demodex*: effect of tea tree oil eyelid scrub in *Demodex blepharitis*. *J Korean Med Sci*. 2012;27:1574–9.
215. Evren Kemer Ö, Karaca EE, Özek D. Efficacy of cyclic therapy with terpinen-4-ol in *Demodex blepharitis*: Is treatment possible by considering *Demodex*'s life cycle? *Eur J Ophthalmol*. 2020;1120672120919085.
216. Lam NSK, Long XX, Griffin RC, Chen M-K, Doery JC. Can the tea tree oil (Australian native plant: *Melaleuca alternifolia* Cheel) be an alternative treatment for human demodicosis on skin? *Parasitology*. 2018;145:1510–20.
217. Persi A, Rebora A. Metronidazole in the treatment of rosacea. *Arch Dermatol*. 1985;121:307–8.
218. Forton S, Marchal S. *Demodex folliculorum* and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol*. 1998;138:461–6.
219. Salem DAB, El-Shazly A, Nabih N, El-Bayoumy Y, Saleh S. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of *Demodex folliculorum*. *Int J Infect Dis*. 2013;17:e343–7.
220. Raoufinejad K, Mansouri P, Rajabi M, Naraghi Z, Jebraeili R. Efficacy and safety of permethrin 5% topical gel vs. placebo for rosacea: a double-blind randomized controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30:2105–17.
221. Koçak M, Yağlı S, Vahapoğlu G, Ekşioğlu M. Permethrin 5% cream versus metronidazole 0.75% gel for the treatment of papulopustular rosacea. A randomized double-blind placebo-controlled study. *Dermatology (Basel)*. 2002;205:265–70.
222. Jacob S, VanDaele MA, Brown JN. Treatment of *Demodex*-associated inflammatory skin conditions: a systematic review. *Dermatol Ther*. 2019;32:e13103.
223. Siddiqui K, Gold LS, Gill J. The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of

- rosacea: a network meta-analysis. SpringerPlus. 2016;5:1151.
224. Stein Gold L, Kircik L, Fowler J, et al. Long-term safety of ivermectin 1% cream vs azelaic acid 15% gel in treating inflammatory lesions of rosacea: results of two 40-week controlled, investigator-blinded trials. *J Drugs Dermatol*. 2014;13:1380–6.
225. Ali ST, Alinia H, Feldman SR. The treatment of rosacea with topical ivermectin. *Drugs Today*. 2015;51:243.
226. Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T, et al. Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol*. 2015;172:1103–10.
227. Schaller M, Dirschka T, Kemény L, Briantais P, Jacovella J. Superior efficacy with ivermectin 1% cream compared to metronidazole 0.75% cream contributes to a better quality of life in patients with severe papulopustular rosacea: a subanalysis of the randomized, investigator-blinded ATTRACT study. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2016;6:427–36.
228. Schaller M, Schöfer H, Homey B, et al. Rosacea management: update on general measures and topical treatment options. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2016;14(Suppl 6):17–27.
229. van Zuuren EJ, van der Linden MMD, Arents BWM. Rosacea treatment guideline for the Netherlands. *Br J Dermatol*. 2020;182:1504–6.
230. Trave I, Merlo G, Cozzani E, Parodi A. Real-life experience on effectiveness and tolerability of topical ivermectin in papulopustular rosacea and antiparasitic effect on *Demodex* mites. *Dermatol Ther*. 2019;32:e13093.
231. Schaller M, Kemény L, Havlickova B, et al. A randomized phase 3b/4 study to evaluate concomitant use of topical ivermectin 1% cream and doxycycline 40-mg modified-release capsules, versus topical ivermectin 1% cream and placebo in the treatment of severe rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 2020;82:336–43.
232. Logger JGM, Peppelman M, van Erp PEJ, de Jong EMGJ, Nguyen KP, Driessen RJB. Value of reflectance confocal microscopy for the monitoring of rosacea during treatment with topical ivermectin. *J Dermatolog Treat*. 2020;1–9. <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1741501>.
233. Cardwell L, Alinia H, Moradi Tuchayi S, Feldman S. New developments in the treatment of rosacea—role of once-daily ivermectin cream. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2016;9:71–7.
234. Abokwidir M, Fleischer AB. Additional evidence that rosacea pathogenesis may involve *Demodex*: new information from the topical efficacy of ivermectin and praziquantel. *Dermatol Online J*. 2015;21:13030/qt13v249f5.
235. Abokwidir M, Fleischer AB. An emerging treatment: topical ivermectin for papulopustular rosacea. *J Dermatolog Treat*. 2015;26:379–80.
236. Ruini C, Sattler E, Hartmann D, Reinholz M, Ruzicka T, von Braunmühl T. Monitoring structural changes in *Demodex* mites under topical ivermectin in rosacea by means of reflectance confocal microscopy: a case series. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31:e299–301.
237. Trompezinski S, Pernet I, Schmitt D, Viac J. UV radiation and prostaglandin E2 up-regulate vascular endothelial growth factor (VEGF) in cultured human fibroblasts. *Inflamm Res*. 2001;50:422–7.
238. Brauchle M, Funk JO, Kind P, Werner S. Ultraviolet B and H2O2 are potent inducers of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem*. 1996;271:21793–7.
239. Stromberg BE, Nutting WB. Adaptive features of the exoskeleton and pigment deposits in *Demodex* spp. (*Demodicidae*). *Acarologia*. 1973;14:605–11.
240. Clanner-Engelshofen BM, French LE, Reinholz M. *Corynebacterium kroppenstedtii* subsp. *demodicis* is the endobacterium of *Demodex folliculorum*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34:1043–9.
241. Akilov OE, Butov YS, Mumcuoglu KY. A clinicopathological approach to the classification of human demodicosis. Ein klinisch-pathologischer Ansatz zur Klassifikation der humanen Demodikose. *J Deut Dermatol Gesell*. 2005;3:607–14.
242. Sędzikowska A, Oseka M, Grytner-Zięcina B. Ocular symptoms reported by patients infested with *Demodex* mites. *Acta Parasitol*. 2016;61:808–14.

5.5.2. Comorbidités & réflexe cholinergique (anti-)inflammatoire

Après avoir défendu la thèse que la prolifération excessive en Demodex est responsable des papules et pustules de la rosacée, et avoir suggéré qu'elle pourrait également intervenir déjà au stade érythématotélangiectasique, nous sommes amenée à réfléchir, dans une optique de vision à long terme, sur son interaction potentielle avec les comorbidités de la rosacée. Car, aussi inattendu que cela puisse être, il se pourrait bien que les Demodex, impactant potentiellement l'immunité de l'hôte, se révèlent bien plus dangereux que prévu, y compris pour la santé en général, en jouant un rôle non négligeable dans le développement des comorbidités de la rosacée.

En manipulant l'immunité de l'hôte au niveau local, il n'est pas impossible qu'une prolifération intense de parasites finisse par avoir des conséquences sur l'immunité générale, par exemple via l'intermédiaire de l'IL-10 (§ 5.2.1.1. A.4.a.) ou de la réaction immunogène. Par ailleurs, les Demodex vivent dans les canaux folliculaires et les glandes sébacées avec lesquelles ils interagissent (l'évidence étant déjà qu'ils les agressent en s'en nourrissant). Or, **les cellules de l'hôte en contact avec le Demodex** (les sébocytes, les kératinocytes, les cellules immunitaires) ainsi que les terminaisons nerveuses, produisent de l'acétylcholine (**ACh**) et ont des récepteurs à l'ACh (AChR). Dans la peau, l'ACh induit la prolifération et la migration kératinocytaire, la différenciation terminale et la formation de barrière ; elle influence également la différenciation des sébocytes, ainsi que la production et la composition du sébum.⁴⁰⁴ Et **le réflexe inflammatoire neuro-immunitaire**, qui régule les multiples aspects de l'immunité et de l'inflammation afin de maintenir l'homéostasie de l'organisme entier, est médié par l'ACh (Annexe § 7.3.4.). Ce réflexe joue un **rôle d'immunomodulateur** (par la « voie cholinergique anti-inflammatoire ») quand les cytokines sont présentes en relativement petites quantités (il inhibe la production de TNF- α , IL-1 β et d'IL-18 dans les macrophages activés).^{465,606,607} Mais, si les cytokines sont présentes en trop grande quantité, ce réflexe est court-circuité, et il y a température et maladie.⁶⁰⁶ Autrement dit, **un processus inflammatoire non interrompu peut altérer cette fonction neuronale d'immunomodulation.**⁶⁰⁷ En plus de ce rôle important dans la régulation des cytokines périphériques et de l'inflammation, les voies cholinergiques cérébrales sont impliquées de manière critique dans l'apprentissage, la mémoire, l'attention, la conscience, le sommeil, le contrôle des mouvements et les fonctions périphériques/viscérales.⁶⁰⁷ Ainsi, un dérèglement de l'activité immunitaire peut entraîner une altération de l'activité du nerf vague et d'autres nerfs périphériques et peut provoquer un dysfonctionnement neuronal du cerveau : parfois, des formes excessives et non résolues d'inflammation périphérique peuvent entraîner des complications neurologiques délétères et

potentiellement mortelles décrites dans plusieurs affections à étiologie inflammatoire et auto-immune, notamment la septicémie, les maladies chroniques du foie, les maladies inflammatoires de l'intestin, l'arthrite rhumatoïde, les affections postopératoires et l'obésité.⁶⁰⁷

Comme le Demodex est responsable d'une réaction immunitaire locale inefficace, ses Ags persistent et l'inflammation persiste. En théorie, cette inflammation persistante, surtout en cas de rosacée intense,⁴⁵¹ pourrait donc induire un dysfonctionnement du contrôle de l'inflammation par le SNC et ainsi moduler/influer sur d'autres maladies inflammatoires.²⁴⁰ Rappelons que chez le chien, cette action de *D. canis* sur le système de contrôle cholinergique anti-inflammatoire a été documentée.¹⁰⁵

A l'inverse, d'autres maladies inflammatoires pourraient modifier l'immunité locale : son amélioration serait responsable des améliorations des RPPs suite au traitement des comorbidités,⁴⁵⁵ tandis que l'induction d'une immunosuppression locale pourrait au contraire favoriser la pullulation des parasite.

De plus, la notion de déficit de contrôle par le SNC évoquée par Brinell *et al* en 1988, pour expliquer les flushes³⁸⁹ (§ 1.4.8.1.) pourrait peut-être également rentrer dans le cadre d'un dérèglement du réflexe inflammatoire ?...

Notons que déjà en 2001, Bormann *et al* avaient suggéré que l'initiation et la maintenance de la rosacée fulminans pourrait être régulée par le système nerveux central, via les cytokines au niveau de la glande sébacée.³⁴⁹

Comme la rosacée est une maladie caractérisée par une réaction inflammatoire excessive et persistante, **nous émettons l'hypothèse qu'un dérèglement du système neuro-immunitaire, qui régule physiologiquement l'inflammation au niveau du corps entier, pourrait potentiellement aussi contribuer à expliquer les comorbidités rencontrées dans la rosacée, par influences réciproques à travers ce système de régulation** (Fig. 102).

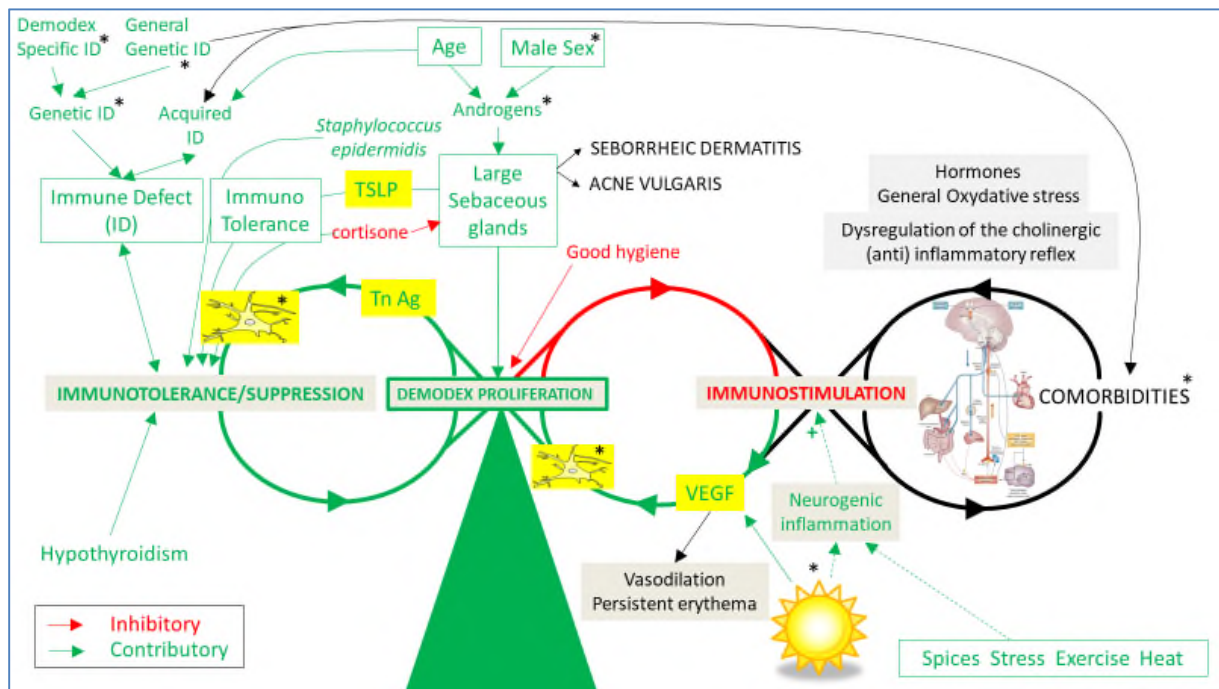


Fig. 102. Schéma résumant notre hypothèse physiopathologique de la rosacée avec intégration de ses comorbidités, par un cercle vicieux supplémentaire.

L'inflammation induite par le Demodex, lorsqu'elle est conséquente, dans les rosacées sévères, pourrait potentiellement influencer d'autres pathologies, et réciproquement, via le dérèglement du réflexe inflammatoire neuro-immunitaire, en plus des mécanismes déjà évoqués dans la littérature (§ 1.4.8.6.). Ce troisième cercle est dessiné en noir, de façon à ne pas préjuger du rôle favorisant ou inhibiteur de cette influence sur la prolifération en parasites, vu que ce rôle dépend vraisemblablement de la nature de la comorbidité.

5.5.3. Nouvelles questions

Suite à nos observations, de multiples **nouvelles questions** se posent qui appellent de **nouvelles études** immunologiques, cliniques et thérapeutiques. En effet, il serait très intéressant de :

1. Développer une **méthode** permettant d'explorer la densité :
 - des *D. brevis* et *D. folliculorum* profondément situés **dans la glande sébacée** ;
 - des *deux espèces* dans le **cuir chevelu** : la microscopie confocale ? la dermatoscopie ou une sorte de loupe (le « Nioscope » qui agrandit environ 200 fois) ??¹⁷⁸
 - des Demodex sans microscope : une méthode encore **plus pratique** et plus rapide que la SSSB, afin d'être encore plus facilement utilisée par les dermatologues ;
2. Etudier la densité en **Demodex au niveau du nez** en cas de rosacée et de phyma, inflammatoire et non inflammatoire, par rapport aux contrôles sains ;
3. Comparer la morphologie des **glandes sébacées du nez** avec celle des joues afin de déceler un facteur limitant l'extrême prolifération des parasites ;

4. Explorer l'atteinte démodécique du **cuir chevelu** associée (ou non) à l'atteinte faciale ;⁵⁶⁴
5. Vérifier **l'association entre l'atteinte du cuir chevelu et celle des paupières**,⁵⁶⁴ ainsi que la densité en Demodex faciale plus élevées lors de ces atteintes ;⁵⁶⁴
6. Explorer la **probable compétition entre le *Malassezia furfur* et le Demodex** (§ 4.2.3.4.) ;
7. Étudier les densités en Demodex parmi **les rosacées stéroïdiennes, en fonction de la pathologie initiale** ayant entraîné le traitement par des corticoïdes (§ 4.2.7.) ;
8. Vérifier, par des études prospectives à long terme, la diminution de survenue de la RPP par un **traitement acaricide des patients atteints de pityriasis folliculorum, ou/et de RET et même de démodécie subclinique** (§ 5.5.1.) ;⁵⁶⁵
9. Effectuer des études longitudinales chez les femmes avant, pendant et après leurs **grossesses** (§ 4.2.7.), évaluant à la fois leur immunité, leurs densités en Demodex et leur évolution clinique, afin de confirmer l'éventuelle influence de la grossesse sur la prolifération en Demodex ; sans doute faudra-t-il un grand nombre de sujets, au vu des études plutôt négatives retrouvées dans la littérature, et une collaboration étroite entre gynécologues et dermatologues ;
10. Investiguer les contributions potentielles relatives de **l'hypothyroïdie, des différents cosmétiques, du savon et de la cortisone**, sur la densité en Demodex normale et haute (§ 4.2.7.) ;
11. Évaluer l'effet **de l'apport en zinc** sur la restauration de l'immunité chez les hypothyroïdiens traités par hormones thyroïdiennes, et, le cas échéant, sur le contrôle de la prolifération en Demodex ;
12. Comparer les traitements par **ivermectine et benzoate de benzyle** (isolé, sans crotamiton) dans des études randomisées en double aveugle, chez les patients atteints de RPP modérées, selon différents paramètres : l'action acaricide, l'effet clinique, la rapidité de ces effets, la tolérance, les effets secondaires, les aggravations en début de traitement, et le délai avant la récurrence, sous traitement d'entretien et sans traitement d'entretien ; il faudra demander à tous les patients d'être prudents, afin d'éviter les irritations liées au BB, étant donné que le dermatologue ne saura pas quel patient reçoit du benzoate de benzyle ;
13. Étudier l'influence d'un **traitement systématique du cuir chevelu** versus placebo, surajouté au traitement de la face, selon ces mêmes paramètres, sur l'efficacité du traitement de la face et sur le délai de récurrence ;
14. Explorer l'innocuité et l'efficacité **du terpinène-4-ol, ingrédient actif du TTO**²⁹⁷ **dans la démodécie/rosacée faciale**, étant donné son extrême efficacité clinique dans les blépharites à Demodex et son action pluripotente sur les paramètres de la rosacée (§ 1.3.7.2.) ;

15. Continuer à explorer les facteurs qui favorisent la prolifération en Demodex, afin d'agir encore plus en amont sur la cause de la maladie (génétiques, immunitaires, ...) ;
16. Etudier **l'environnement immunitaire du pityriasis folliculorum** et y explorer le rôle de la cellule dendritique : il y règne probablement un micro-environnement immunosuppresseur en partie induit par le parasite, environnement qui n'est **pas encore brouillé** (au moins vraisemblablement chez les patients sans érythème) par la réaction inflammatoire déclenchée dans un deuxième temps, et qu'il détourne visiblement pour la rendre inefficace. Ce climat immunitaire est-il différent selon qu'un érythème lui est associé ou pas ? Le climat immunitaire du pityriasis folliculorum avec érythème est-il différent de celui qui règne dans une RET simple avec densité en Demodex normale ?
17. Etudier **le rôle de la cellule dendritique dans la rosacée** (RET, RPP), et l'interaction de celle-ci avec le Demodex, et avec le VEGF : le VEGF favorise-t-il bien l'échappement des Demodex à la surveillance par le système immunitaire, comme il le fait pour les cellules tumorales⁵⁸⁷(§ 7.3.2.) ? En collaborant avec les cellules dendritiques tolérogènes comme proposé (§ 5.2.1.1. A.4.b.) ?⁵⁸⁹
 Dans la RPP, règne-t-il un épuisement lymphocytaire lié à la persistance de l'antigène,⁶⁰⁸ comme chez le chien ?⁹³
18. Quels sont précisément les **Aggs du Demodex** qui stimulent le TLR2 ?
19. Son Ag Tn joue-t-il bien le même rôle que celui qu'il joue dans le contexte tumoral ?
20. Essayer de distinguer/démêler les **réactions immunitaires opposées** induites par le Demodex, dans des cultures de kératinocytes, avec et sans cellules dendritiques, par exemple, quand il sera possible de le maintenir en vie dans ce milieu ; et étudier ensuite leurs interactions : comment se passe le conflit qu'il y a entre ces deux effets ?
21. Confirmer (ou pas) que **l'exposition aux UVs, sur une peau vierge de parasites**, ne parvient pas à déclencher la formation de papulopustules ;
22. Afin d'essayer de cultiver les parasites, essayer de fabriquer une culture de kératinocytes avec des mini tubes à essais, du diamètre de l'infundibulum pileaire, afin de reproduire la **structure tubulaire** probablement nécessaire à la copulation du Demodex ;
23. Explorer l'influence de **l'acide lipoteichoïque**, sécrété par le *Staphylocoque epidermidis*, sur les interactions entre le Demodex et l'immunité,
24. Explorer les influences réciproques entre la prolifération en Demodex et les comorbidités de la rosacée ; et en particulier **l'influence potentielle du Demodex sur les fonctions neuroendocrines des glandes sébacées** et, de là, sur le réflexe inflammatoire neuro-immunitaire ?
25. ...

5.6. Conclusion

Toutes nos observations convergent vers la confirmation du rôle pathogène du Demodex dans la rosacée, surtout papulopustuleuse, et suggèrent des liens physiopathologiques clairs entre RET, pityriasis folliculorum, rosacées avec papulopustules, avec ou sans érythème permanent, et autres démodécies.

Elles doivent être confirmées par des études longitudinales indépendantes et des études contrôlées, mais d'ores et déjà, ajoutées aux données actuelles de la littérature, elles nous semblent aujourd'hui suffisantes pour reconnaître le rôle pathogène du parasite dans la rosacée, surtout papulopustuleuse. Il y apparaît comme une cause nécessaire, au centre d'un réseau causal en toile d'araignée où les autres co-facteurs interagissent continuellement et influencent à la fois sa prolifération et la symptomatologie.

Cette reconnaissance donnerait une définition principalement étiologique à la rosacée, la classerait parmi les démodécies, et en faciliterait la prise en charge et le traitement.

6) RESUME

Le Demodex, petit acarien vivant dans les follicules pilo-sébacés de tous les humains adultes, est reconnu responsable des démodécies chez l'homme mais n'est considéré dans la rosacée, au plus, que comme un facteur aggravant potentiel d'une inflammation préexistante.

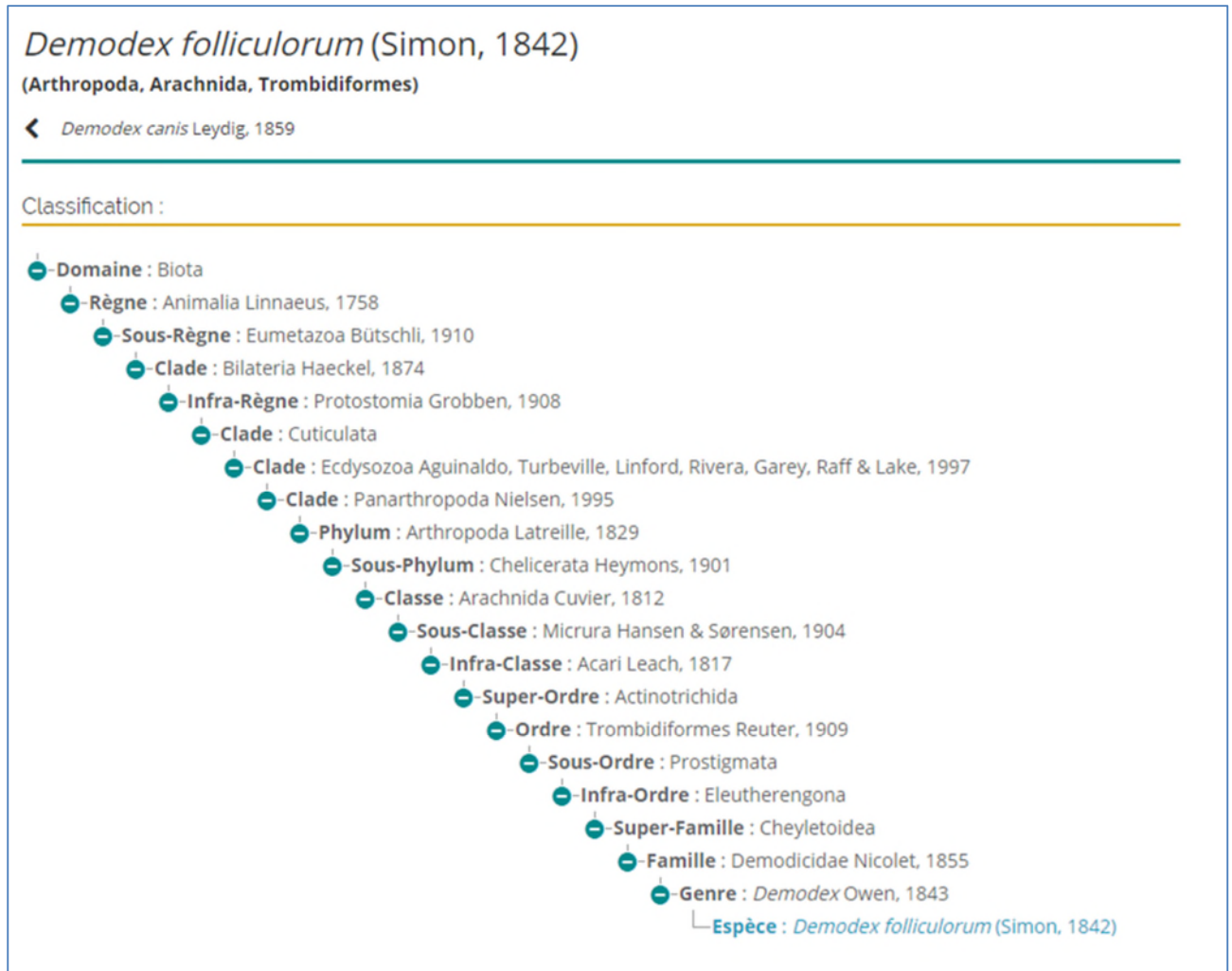
Toutes nos observations, depuis 1983, convergent vers la confirmation de son rôle pathogène dans la rosacée, et suggèrent des liens physiopathologiques clairs entre rosacées avec papulopustules (RPP) avec ou sans érythème permanent, rosacée érythématotélangiectasique (RET), pityriasis folliculorum et autres démodécies.

(1) Dans les biopsies cutanées, le Demodex est associé à l'inflammation périfolliculaire. (2) Le concept de densité en Demodex a été introduit et une méthode de prélèvement standardisée permettant de mesurer cette densité a été développée, puis perfectionnée. (3) Elle a permis de montrer que cette densité était nettement supérieure chez les patients atteints de démodécie et de RPP, que chez ceux avec peau saine et ceux atteints d'autres dermatoses faciales, les patients avec RPP sans prolifération en Demodex étant exceptionnels. (4) Un test diagnostique hautement spécifique et sensible, utilisable facilement en consultation a été élaboré et validé. (5) Des signes cliniques discrets de ces dermatoses ont été mis en évidence, de même que la grande fréquence des démodécies en consultation de dermatologie (alors qu'elles sont très peu diagnostiquées). (6) L'effet acaricide sur le Demodex de six traitements topiques a été comparé in vivo et les meilleures molécules ont été utilisées pendant une vingtaine d'années : sur base des résultats collectés, l'efficacité du traitement a été démontrée, non seulement sur la densité en Demodex mais également sur les symptômes cliniques, tant parmi les démodécies que dans la RPP, ce qui prouve indirectement que la prolifération en parasites n'est pas un épiphénomène mais est bien la cause de la maladie. (7) Parmi les modalités comparées, les plus intenses ont une efficacité plus rapide et une meilleure compliance. (8) La RET peut correspondre à une démodécie subclinique et est probablement un facteur favorisant la prolifération des parasites, tout comme le sont probablement l'hyperplasie sébacée et l'hypothyroïdie, tandis que la cortisone semble limiter leur prolifération quand celle-ci est excessive. (9) Les similarités et les confusions nosologiques entre les démodécies et les différentes formes de rosacée ont été mises en évidence, afin de montrer que ces dermatoses ne sont vraisemblablement que des phénotypes d'une seule et même maladie : ce sont toutes des démodécies. (10) Trois systèmes d'attribution d'une cause à une maladie convergent pour confirmer le rôle pathogène du Demodex dans la RPP.

Nos observations doivent être confirmées par des études longitudinales et des études contrôlées, mais d'ores et déjà, ajoutées aux données actuelles de la littérature, elles nous semblent suffisantes pour reconnaître le rôle pathogène du parasite en médecine humaine et dans la rosacée en particulier. Cette reconnaissance donnerait une définition principalement étiologique à la rosacée, la classerait parmi les démodécies, et en faciliterait la prise en charge et le traitement. Nous proposons une hypothèse physiopathologique originale où le Demodex se trouve au centre d'un réseau causal « en toile d'araignée », la RPP étant considérée comme une infection chronique s'accompagnant d'épuisement lymphocytaire.

7) ANNEXES

7.1. Taxonomie complète²¹



Taxonomie complète du *Demodex folliculorum*.

Cette figure est reproduite depuis « *Demodex folliculorum* (Simon, 1842). Inventaire Natl. Patrim. Nat. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/840343 (accessed 9 Apr2020) ». ²¹

7.2. Distribution topographique des Demodex

A. Etude de Nutting *et al* : le *D brevis* prédomine⁶⁰

Table 1
Topologic distribution of *Demodex brevis* (*D. b.*), *D. folliculorum* (*D. f.*), and pilosebaceous units from scalp to anus. Values computed from 21 standard (5 mm) length, 10 µm thickness sections stained with HaE.

Topologic area	Mites/mm ²		Pilosebaceous units/mm ²	Mites/100 pilosebaceous units	
	<i>D. f.</i>	<i>D. b.</i>		<i>D. f.</i>	<i>D. b.</i>
Scalp	0.72	2.9	9.0	9	36
Forehead	2.7	4.65	4.9	42	115
Eyebrow	3.77	2.9	4.0	99	68
Eyelid	0.95	1.61	4.6	78	75
Nose	0.17	1.19	6.5	6	14
Nasolabial	0.83	1.38	5.6	18	29
Ear canal	0.2	0.23	6.0	6.5	1.7
Chest	0.33	2.6	2.7	12	100
Neck	0.0	0.0	1.4	0	0
Axilla	0.0	0.0	2.4	0	0
Wrist	0.0	0.0	1.6	0	0
Hip	0.0	0.0	2.6	0	0
Scrotum	0.0	0.0	1.8	0	0
Perianal	0.0	0.0	3.6	0	0
Groin	0.0	0.0	0.56	0	0

Distribution topographique des *D brevis* (*D. b.*), *D. folliculorum* (*D. f.*) et des unités pilosébacées.
Les valeurs sont obtenues à partir de 21 prélèvements (coupes de 5 mm de long sur **10 µm d'épaisseur**)

prélevés en 15 endroits différents sur les corps (biopsies et autopsies), sans autre précision (sur le nombre de sujets, le nombre de prélèvements par sujet...).⁶⁰ Les cadres bleus mettent en évidence les endroits où le *D brevis* semble prédominer nettement. Tableau reproduit depuis « Nutting WB et Firda KE, Desch CE Jr. Topology and histopathology of hair follicle mites (demodicidae) of man. Progress in Acarology, 1989, vol. 1, p. 113-121 ».⁶⁰

Notons qu'en général, les coupes de biopsies ont une épaisseur de seulement 5 µm :⁵¹ cette étude-ci nous semble donc relativement fiable vu que l'épaisseur de coupe de 10 µm augmente logiquement les chances de mettre les parasites en évidence.

B. Etude de Aylesworth & Vance : le *D folliculorum* prédomine³⁸

Distribution topographique des *D brevis* et *D folliculorum*. Valeurs obtenues à partir de l'examen rétrospectif de coupes « multiples » provenant de 117 biopsies contenant des Demodex, parmi 1124 biopsies cutanées examinées (10%), dont 668 contenaient au moins un follicule (la prévalence montant alors à 18%).
Tableau reproduit depuis « Aylesworth R, Vance JC. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol* 1982; **7**: 583–589».³⁸

Location	Total (%)	<i>D. folliculorum</i> (%)	<i>D. brevis</i> (%)
Temple (n = 49)	45	37	8
Nose (n = 56)	40	38	2
Cheeks (n = 74)	27	23	4
Forehead (n = 20)	35	30	5
Ears (n = 24)	38	38	0
Perioral (n = 17)	29	29	0
Chin (n = 24)	13	13	0
Periorbital (n = 15)	27	20	7
Neck (n = 46)	18	9	9
Chest (n = 34)	9	0	9
Back (n = 76)	4	4	1
Body unspecified (n = 30)	10	7	3
All other sites (n = 198)	0	0	0

7.3. Immunologie & neurologie : notions connexes

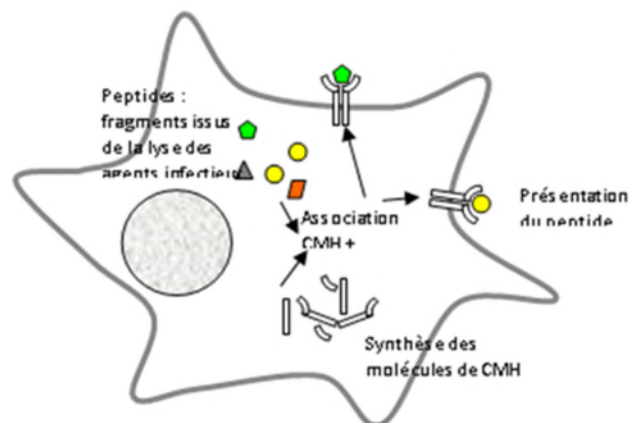
7.3.1. Tolérance immunologique

La **tolérance immunologique** vise à protéger le soi de réactions immunitaires inappropriées : elle permet de supprimer les réactions immunitaires dirigées contre soi et aussi de contrôler la réponse à une infection prolongée et persistante, afin de diminuer les dommages collatéraux contre soi.⁵⁸¹ Cette immunotolérance est réglée de façon centrale dans le thymus (qui élimine les lymphocytes T réactifs contre soi), en collaboration avec les cellules périphériques (les cellules dendritiques (DCs) et les lymphocytes T régulateurs (natifs, produits dans le thymus)) qui éliminent les cellules T effectrices réactives contre soi qui auraient survécu à leur passage par le thymus).⁵⁸¹

La cellule dendritique est la sentinelle du système immunitaire : grâce à ses récepteurs, dont les récepteurs type Toll (TLR) et lectine type-C (MGL), qui s'influencent l'un l'autre et coopèrent,⁵⁷⁹ la cellule dendritique capte l'Ag, l'analyse, décide s'il faut l'éliminer ou le tolérer. Elle distingue les germes pathogènes des germes commensaux et déclenche soit une **réaction de défense** contre les microorganismes décelés, soit une **réaction d'immunotolérance**.^{400,579} Elle fait le lien entre l'immunité innée et l'immunité acquise, et est la plus puissante cellule présentatrice d'Ag.^{581,609}

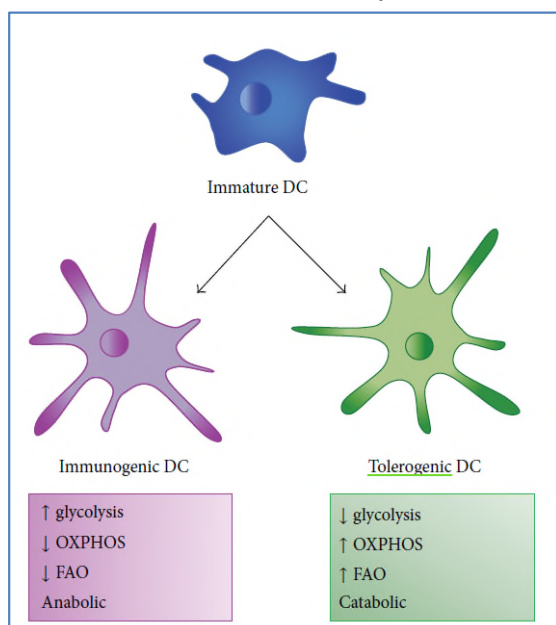
Cette différence de fonction (immunogène ou tolérogène) s'accompagne d'une vraie transformation de la DC elle-même.

Quand elle reconnaît un Ag à éliminer, la DC immature évolue en **DC mature/ immunogène**, subissant le phénomène appelé « maturation » : elle migre dans les ganglions lymphatiques drainants, régule à la hausse les molécules co-stimulatrices et secrète des cytokines pro-inflammatoires. Dans les ganglions, la DC immunogène/mature active les lymphocytes T naïfs et stimule l'immunité adaptative, afin de lutter contre les microorganismes décelés.⁴⁰⁰ Pour ce faire, elle présente efficacement l'Ag grâce à des molécules présentatrices d'Ag, dont le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), aux lymphocytes T spécifiques de l'antigène, qui éliminent ensuite les pathogènes.⁵⁸¹ Pour être efficace cette présentation d'Ag doit s'accompagner de l'expression simultanée de molécules co-activatrices de la différenciation et de



la prolifération ;⁵⁸¹ les DC matures expriment donc plus de CMH, de molécules co-stimulatrices (CD40, CD80, CD86,..), portent moins d'acide sialique sur leur surface (cet acide diminue la qualité de la connexion synaptique avec les lymphocytes) et produisent plus de cytokines.⁶⁰⁹ Cette maturation s'accompagne d'un métabolisme rapide, utilisant le sucre comme source d'énergie, et donc basé sur la **glycolyse** produisant rapidement de l'ATP par scission du glucose.⁵⁸¹

Quand elle reconnaît un Ag à tolérer (Ags du soi, germes commensaux) elle évolue en **DC tolérogène**, basant cette fois son métabolisme essentiellement sur la **respiration mitochondriale** (avec phosphorylation oxydative de l'ADP en ATP),⁶¹⁰ un métabolisme moins exigeant, plus lent, mais plus rentable, qui utilise les triglycérides comme source de carbone, et produit une augmentation de l'oxygénation des acides gras, génère des dérivés réactifs de l'oxygène (lesquels produisent à leur tour des radicaux libres nocifs), mais s'accompagne également d'une augmentation d'anti-oxydants.⁵⁸¹ La glycolyse diminue,⁵⁸¹ ou pas⁶¹⁰ suivant les auteurs, mais est quand même maintenue dans la DC tolérogène, ce qui témoignerait d'une plus grande plasticité pour maintenir le niveau d'ATP.⁶¹⁰ En général, une DC tolérogène exprime un niveau plus faible de molécules de surface MHC de classe II et co-stimulatrices par rapport aux DCs immunogènes,⁵⁸¹ elle produit des facteurs immunosuppresseurs, dont **l'IL-10** et le facteur de croissance transformant bêta (**TGF-β**), qui contribuent à leur fonction en favorisant l'expansion de lymphocytes T régulateurs (Tregs) et en inhibant directement la réponse des cellules T.⁵⁸¹



Différenciation des cellules dendritiques : La cellule dendritique (DC) immature peut se transformer soit en **DC immunogène** qui induit la transformation des lymphocytes T naïfs en TH1/TH2/TH17 effecteurs et l'élimination des pathogènes, soit en **DC tolérogène** qui induit l'expansion des lymphocytes T régulateurs et la non-réponse des lymphocytes T effecteurs, et par là, la tolérance immunitaire. La DC immature se transforme en DC immunogène parallèlement à un changement de métabolisme vers la glycolyse, qui est associée à l'augmentation de la fonction d'effecteur. La DC tolérogène, en revanche,

déplace le métabolisme cellulaire vers l'OXPHOS (phosphorylation oxydative) et favorise la FAO (oxydation des acides gras) : ce profil catabolique et hautement énergétique peut être lié à l'énergie requise pour supprimer et dégrader les protéines. Cette figure est reproduite depuis Sim WJ, Ahl PJ, Connolly JE. Metabolism Is Central to Tolerogenic Dendritic Cell Function. *Mediators Inflamm* 2016; **2016**: 2636701.

7.3.2. Épuisement lymphocytaire

L'épuisement lymphocytaire (« T cell exhaustion ») est un phénomène au cours duquel les cellules T sont réquisitionnées, mais perdent progressivement leurs fonctions, en ce sens que les cellules les plus efficaces contre l'Ag sont progressivement inactivées et plus rapidement éliminées ; elles sont distinguables par différents marqueurs de surface. Les lymphocytes T reg et les cellules myéloïdes suppressives s'accumulent et **cellules T** CD8⁺ cytotoxiques perdent leur fonction.⁵⁸⁷ Ce phénomène d'épuisement a été observé au cours de nombreuses infections virales et aussi au cours de tumeurs malignes.⁶⁰⁸ Il survient d'autant plus que les infections sont chroniques et avec présence d'une grande quantité d'antigènes ; par contre, si la quantité d'Ag diminue, les lymphocytes épuisés peuvent regagner peu à peu leurs fonctions.

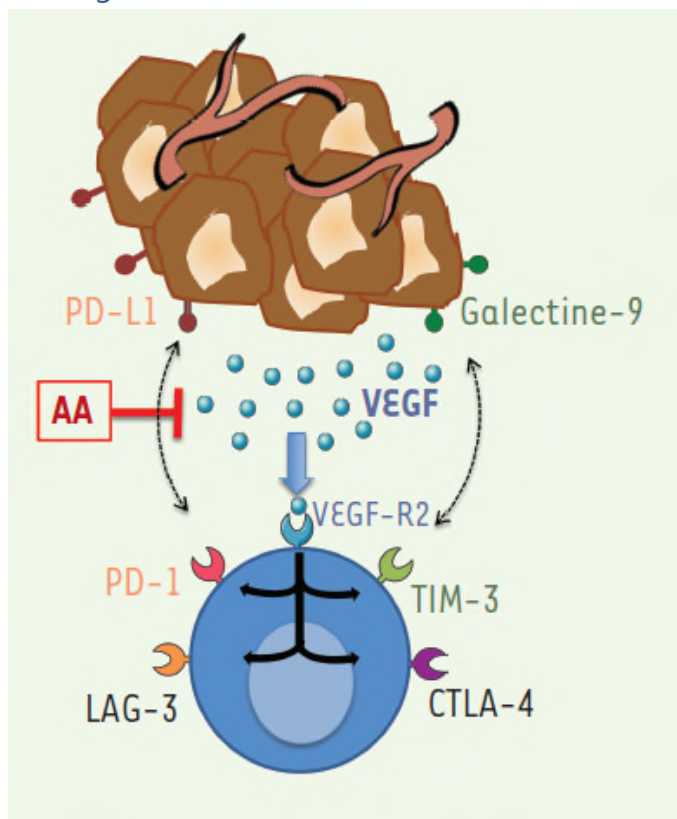
Schéma illustrant le mécanisme par lequel les tumeurs induisent l'épuisement lymphocytaire via la sécrétion de VEGF.

Les tumeurs sécrètent le VEGF. Le VEGF est réceptionné par le récepteur présent sur les lymphocytes T CD8⁺ effecteurs cytotoxiques (VEGF-R2) : cela induit l'expression à la surface du lymphocyte, de récepteurs/molécules de co-stimulation inhibitrices (program cell death-1 (PD-1), T-cell immunoglobulin and mucin 3 domain (TIM-3), cytotoxic T lymphocyte antigen (CTLA-4) ou lymphocyte activation gene 3 (LAG-3)).

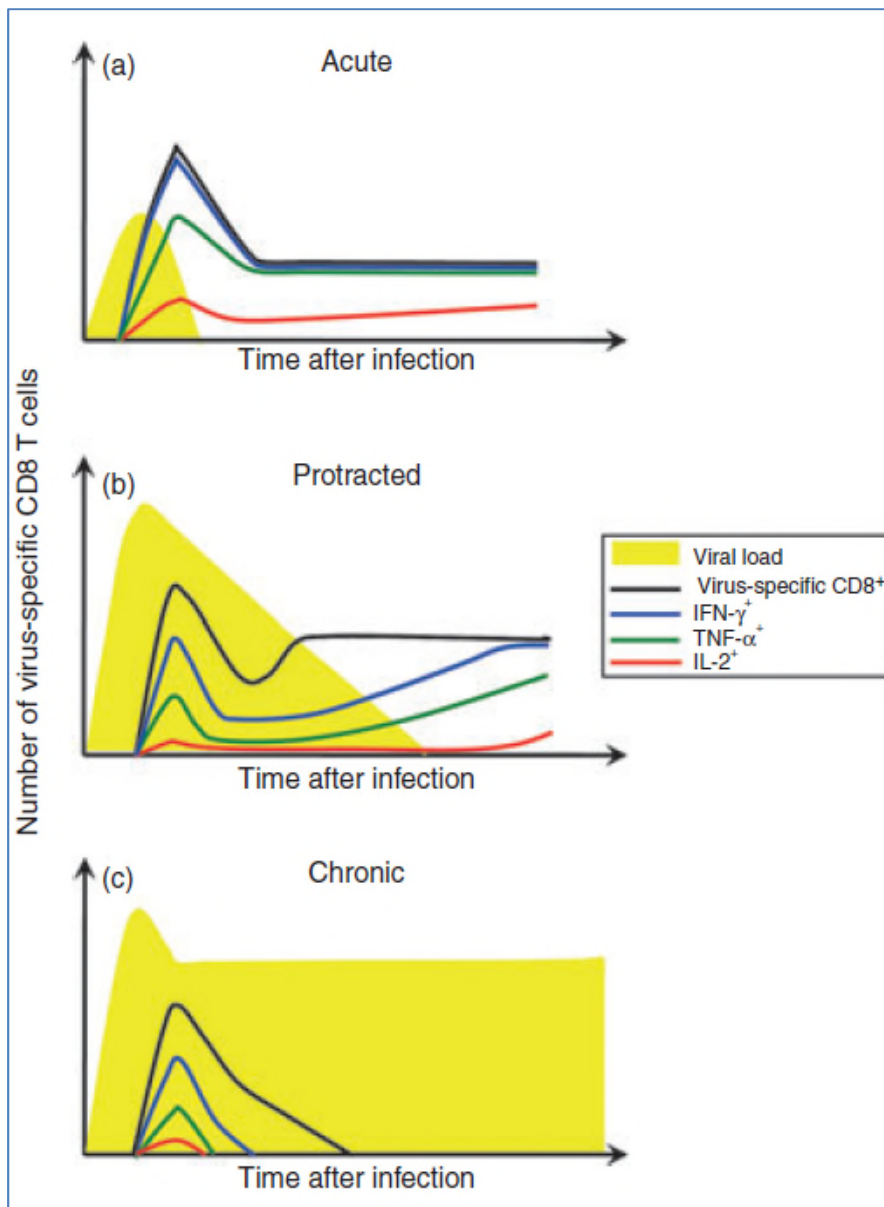
Quand ces récepteurs, induits, se lient à leurs ligands présents dans le microenvironnement tumoral (PD-L1 et galectine-9, ...), cela provoque la **perte de certaines fonctions de ces lymphocytes** : on parle d'**épuisement lymphocytaire**.

Cet effet peut être inhibé par l'utilisation de molécules anti angiogéniques (AA) ciblant la voie VEGF-A/VEGFR.

Schéma reproduit depuis « Voron T et al. Rôle du VEGF dans l'épuisement des lymphocytes T intra tumoraux. *médecine/sciences* 2015; **31**: 473–475 ».⁵⁸⁷



Représentation schématique des différentes réponses immunitaires des CD8⁺ :



(a) Infection

aigüe : Petite charge virale rapidement maîtrisée, avec établissement de lymphocytes T mémoires qui établissent une série de fonctions.

(b) Infection

subaiguë : charge virale importante, réponse immunitaire moins intense, infection non maîtrisée, les lymphocytes s'épuisent, l'infection persiste ; quand, enfin, elle diminue, les lymphocytes retrouvent leur fonction ;

(c) Infection

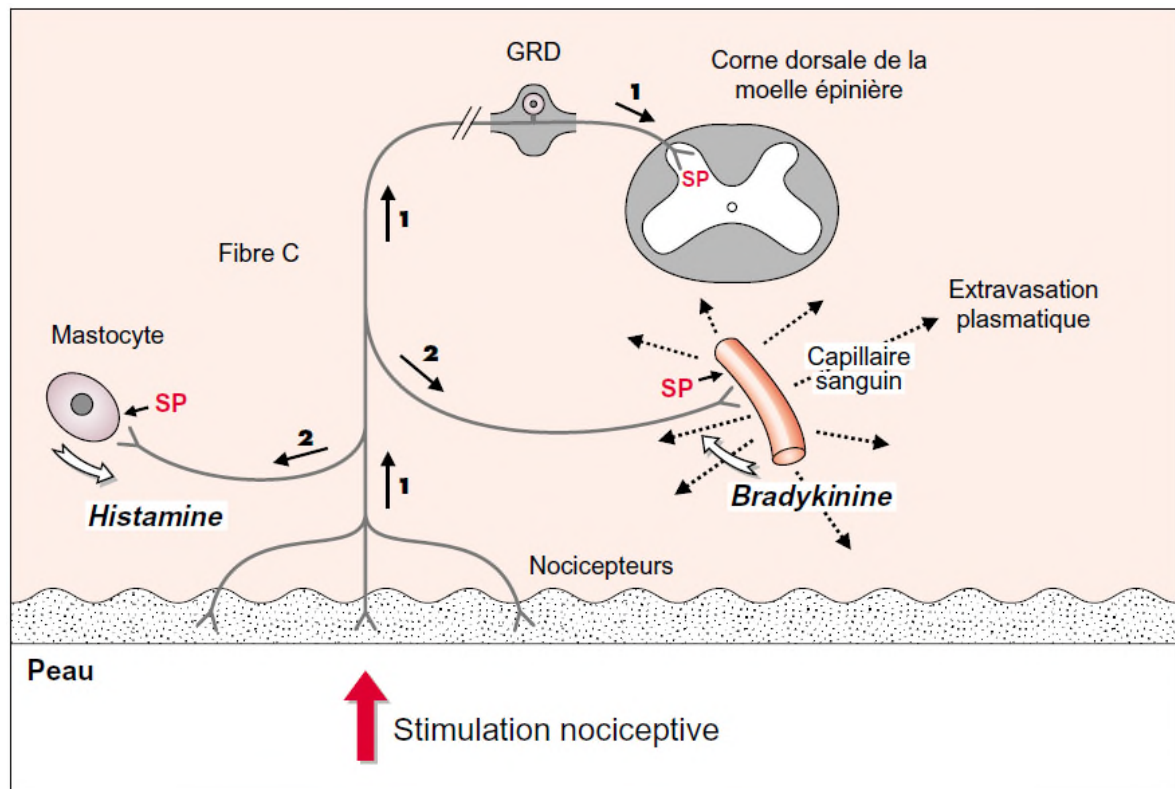
chronique : charge virale importante, réponse immunitaire moins intense avec

épuisement plus rapide des lymphocytes qui ne retrouvent pas leur fonction tant que la charge virale reste haute.⁶⁰⁸

Cette figure est reproduite depuis Yi JS et al. T-cell exhaustion: characteristics, causes and conversion. Immunology 2010; 129: 474–481.⁶⁰⁸

7.3.3. Inflammation neurogène

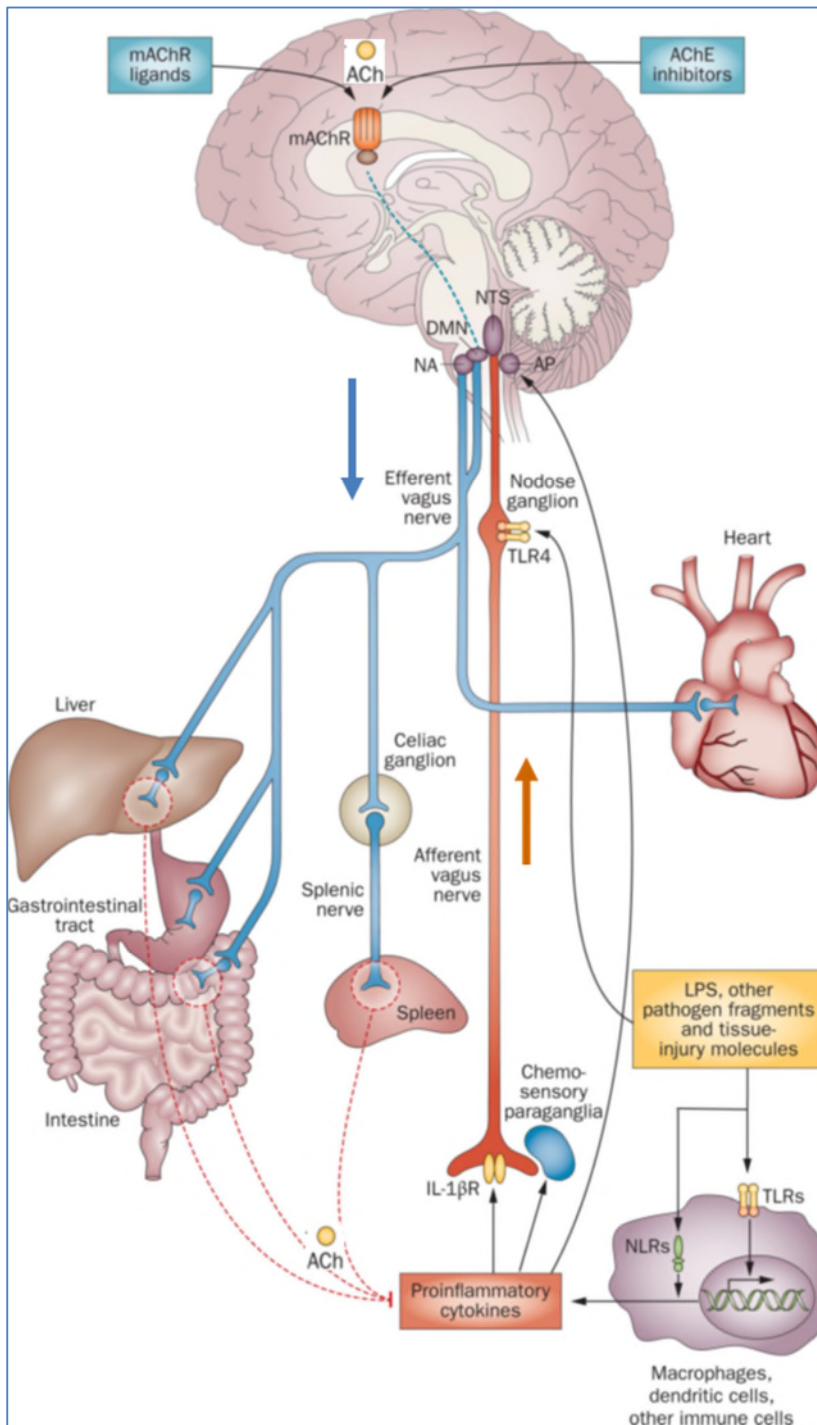
L' **inflammation neurogène** est un mécanisme « réflexe » par lequel les nerfs sensoriels participent à l'inflammation, par l'intermédiaire de la substance P, puissant vasodilatateur qui peut induire une libération de bradykinine et d'histamine (et de sérotonine dans le SNC).³⁹⁴



L'inflammation neurogène. La substance P (SP), synthétisée dans le corps cellulaire des neurones localisés dans le ganglion de la racine dorsale (GRD), est véhiculée par les fibres nerveuses (C) aux deux extrémités de l'axone, en particulier l'extrémité périphérique. Lorsqu'une stimulation active les fibres C en périphérie (flèche rouge), elle est propagée de façon **orthodromique (1)** vers la synapse **centrale** dans la moelle épinière, et de **façon antidromique (2)** à chaque nœud de bifurcation de l'axone, vers les terminaisons **périphériques** de l'axone, où la SP est libérée. La SP libérée stimule des effecteurs, par exemple les capillaires sanguins, et déclenche l'extravasation plasmatique par augmentation de la perméabilité capillaire et la libération de la bradykinine ; de même, les mastocytes répondent par une libération d'histamine, un des médiateurs de l'inflammation.³⁹⁴

Ce schéma est reproduit depuis l'article « Calvino B. Substance P et douleur : ne pas céder au réductionnisme pharmacologique. Med Sci (Paris), 1998 ; 14 (N° 6-7): 805-807 ». ³⁹⁴

7.3.4. Reflexe neuro-immunitaire anti-inflammatoire



Anatomie fonctionnelle du réflexe inflammatoire :

mécanisme physiologique par lequel le nerf vague régule la fonction immunitaire et inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires, via la production d'ACh. En bas à droite : lorsque les récepteurs type Toll ou NOD sont activés lors d'une stimulation immunitaire, les médiateurs inflammatoires, tels que les cytokines (rectangle rouge), sont libérés par les macrophages activés et d'autres cellules immunitaires. Ces médiateurs sont détectés par les terminaisons sensorielles du **bras afférent du nerf vague (en rouge)**. Les interconnexions neuronales entre les régions inférieures (NTS, AP, DMN, NA) et les régions supérieures du cerveau antérieur (non

illustrées) intègrent la signalisation afférente et la production immuno-régulatrice efférente à médiation du nerf vague.

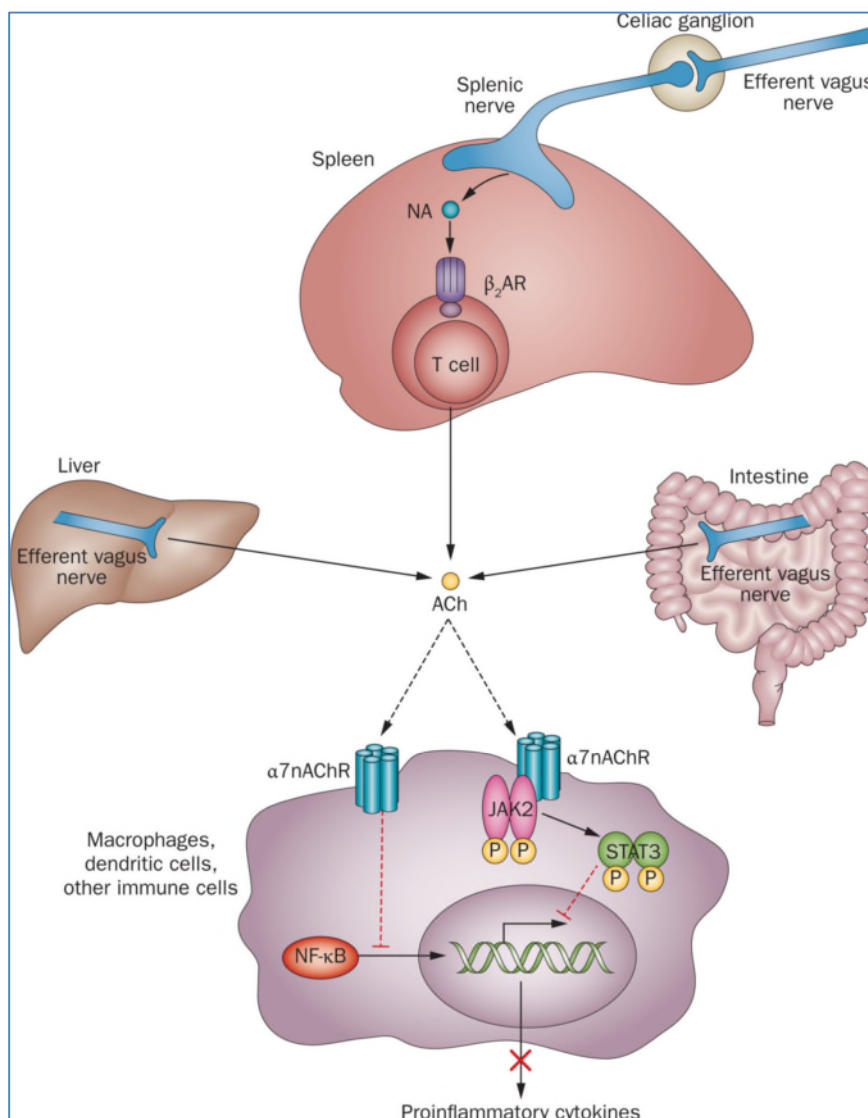
La production cholinergique du **nerf vague efférent (en bleu)** vers la rate, le foie et le tractus gastro-intestinal, régule l'activité immunitaire en supprimant la libération de cytokines pro-inflammatoires (**lignes rouges en pointillés**) : détails moléculaires sont expliquées dans la Figure suivante. Ce bras cholinergique efférent du réflexe inflammatoire est appelé la **voie cholinergique anti-inflammatoire** et peut être activé dans le cerveau par des mécanismes déclenchés par l'acétylcholine (agonistes

se liant aux récepteurs muscariniques de l'acétylcholine et inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, tels que la galantamine).

Abréviations : ACh= acétylcholine ; AChE= acétylcholinestérase ; AP= area postrema = aire du vomissement ; DMN= noyau moteur dorsal du nerf vague ; LPS= lipopolysaccharide (endotoxine) ; mAChR= récepteur muscarinique de l'acétylcholine ; NA= noyau ambigu ; NLRs, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors= récepteurs de type NOD ; NTS= noyau du tractus solitaire ; TLR4= récepteur de type Toll 4.

Ce schéma est reproduit et adapté depuis « Pavlov VA, Tracey KJ. The vagus nerve and the inflammatory reflex-linking immunity and metabolism. Nat Rev Endocrinol. 2012; 8:743-754». ⁶⁰⁶

Mécanismes moléculaires du contrôle cholinergique de l'inflammation. L'activité du nerf vague efférent se traduit, dans la rate, par l'activation de la libération d'acétylcholine dérivée des lymphocytes T par l'intermédiaire des catécholamines, et, dans d'autres organes, par la libération directe d'acétylcholine par les terminaisons du nerf vague efférent. Celle-ci agit sur les cellules immunitaires et induit l'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires par différentes voies moléculaires.



Abréviations : ACh = acétylcholine ; β 2AR = β 2 récepteur adrénergique ; JAK2= Janus kinase 2 ; α 7nAChR= α 7 récepteur nicotinique de l'acétylcholine ; NA= noradrénaline ; NF-Kb= facteur nucléaire κ B ; STAT3= transducteur de signal et activateur de la transcription 3.

Ce schéma est reproduit depuis « Pavlov VA, Tracey KJ. The vagus nerve and the inflammatory reflex-linking immunity and metabolism. Nat Rev Endocrinol. 2012; 8:743-754». ⁶⁰⁶

7.4. Importance croissante accordée au Demodex

Ces dernières années, les schémas physiopathogéniques de la rosacée accordent progressivement une place de plus en plus importante au Demodex, ce qui est probablement dû en partie à l'arrivée de l'ivermectine topique sur le marché pour traiter la rosacée (§ 1.4.9.2.) et en partie peut-être aussi à notre article réagissant aux publications de Yamasaki et Gallo (§ 3.9).

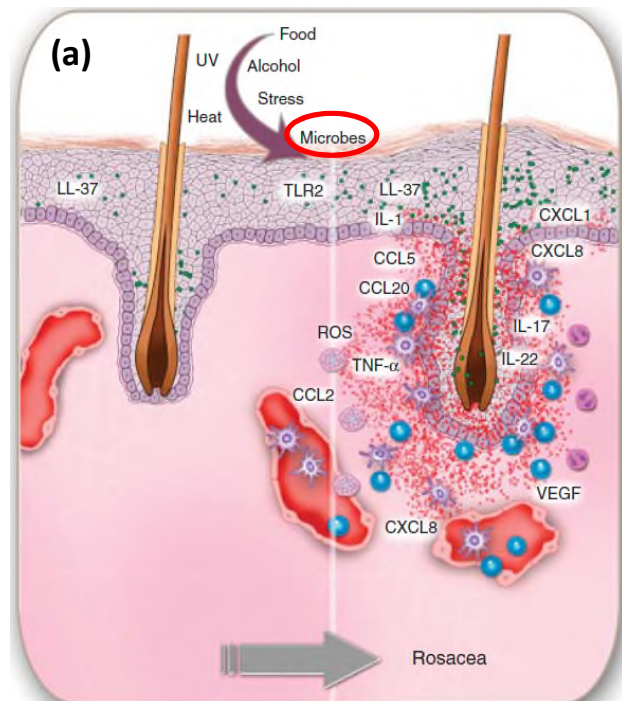
Reflet de l'importance croissante accordée au Demodex au fil du temps au travers de 5 schémas physiopathologiques publiés ces 10 dernières années. Dans chaque schéma, nous avons mis le Demodex en évidence en l'entourant de rouge. Le schéma (a) insiste plus sur les cytokines. Le schéma (d) intègre en outre les comorbidités de la rosacée (§ 1.4.8.6.).

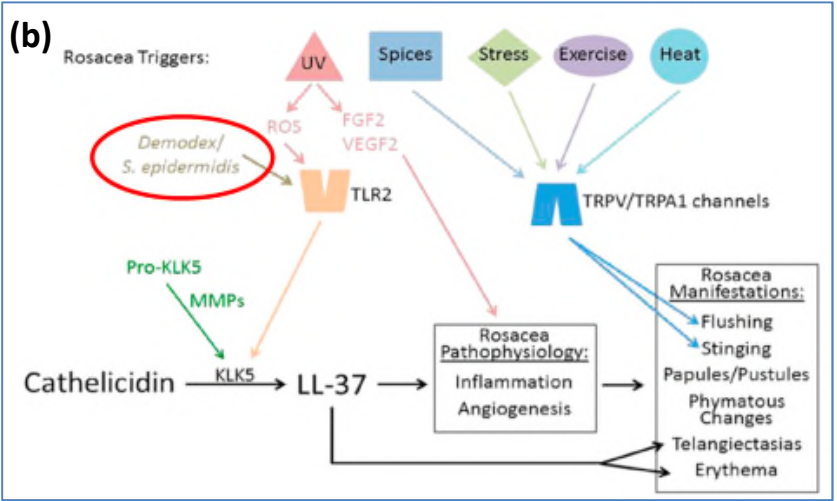
a) : 2011 : Représentation schématique du rôle des cytokines dans la rosacée. Bien que le terme « microbes » désigne en principe des organismes unicellulaires pathogènes, les auteurs l'utilisent d'une façon élargie, en y incluant spécifiquement le Demodex (qui n'est évidemment pas unicellulaire) car ils spécifient dans leur texte: « TLRs recognize conserved products derived from microbes (e.g., *D. folliculorum*)... ».⁴¹⁰

Les facteurs déclenchants de la rosacée stimulent les récepteurs Toll-2 (ou autres), induisant **une première**

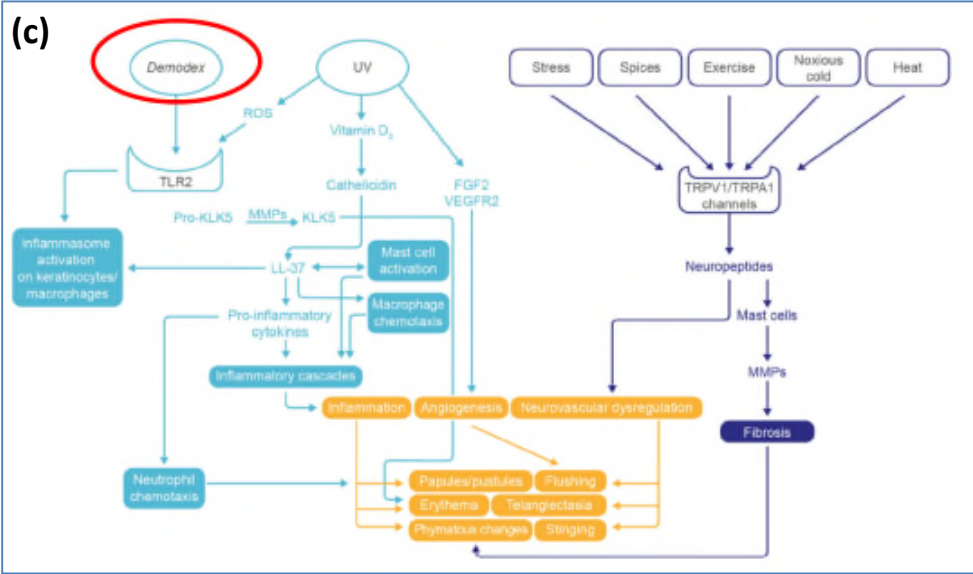
décharge de cytokines pro-inflammatoires primaires telles que le facteur de nécrose tumorale (TNF)- α et IL-1, ainsi qu'une grande quantité de cathélicidines LL-37 anormales. Tout cela aboutit à une **première vague de chimiokines qui attire les lymphocytes T (Th1 et Th17) en périfolliculaire**. Ces lymphocytes sécrètent à leur tour des **cytokines (IL-17, IL-22)** qui, ainsi que les rayonnements **UV**, stimulent les kératinocytes à sécréter d'autres **chimiokines (CXCL...)** qui attirent d'autres **Th 17** et des **polymorphonucléaires neutrophiles** en abondance, ce qui entraîne la formation **de pustules**. Simultanément, L'IL-17 favorise **l'angiogenèse** par l'induction du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (**VEGF**). D'autres médiateurs angiogéniques interviennent également (CCL2, CXCL1, CXCL8 et les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS)).

Cette figure est reproduite depuis l'article « Gerber PA *et al.* Rosacea: The cytokine and chemokine network. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011; 15(1): 40-7 ».⁴¹⁰

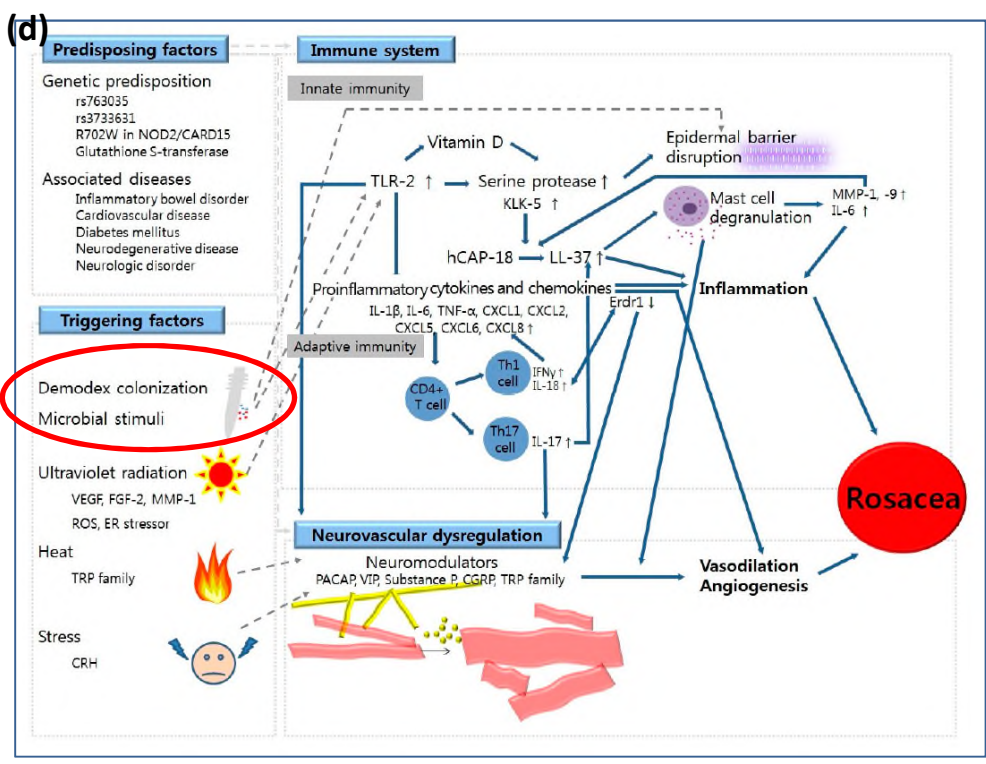




(b) 2015 : Schéma reproduit depuis « Two AM, et al. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. J Am Acad Dermatol 2015; 72: 749-58». ²³¹

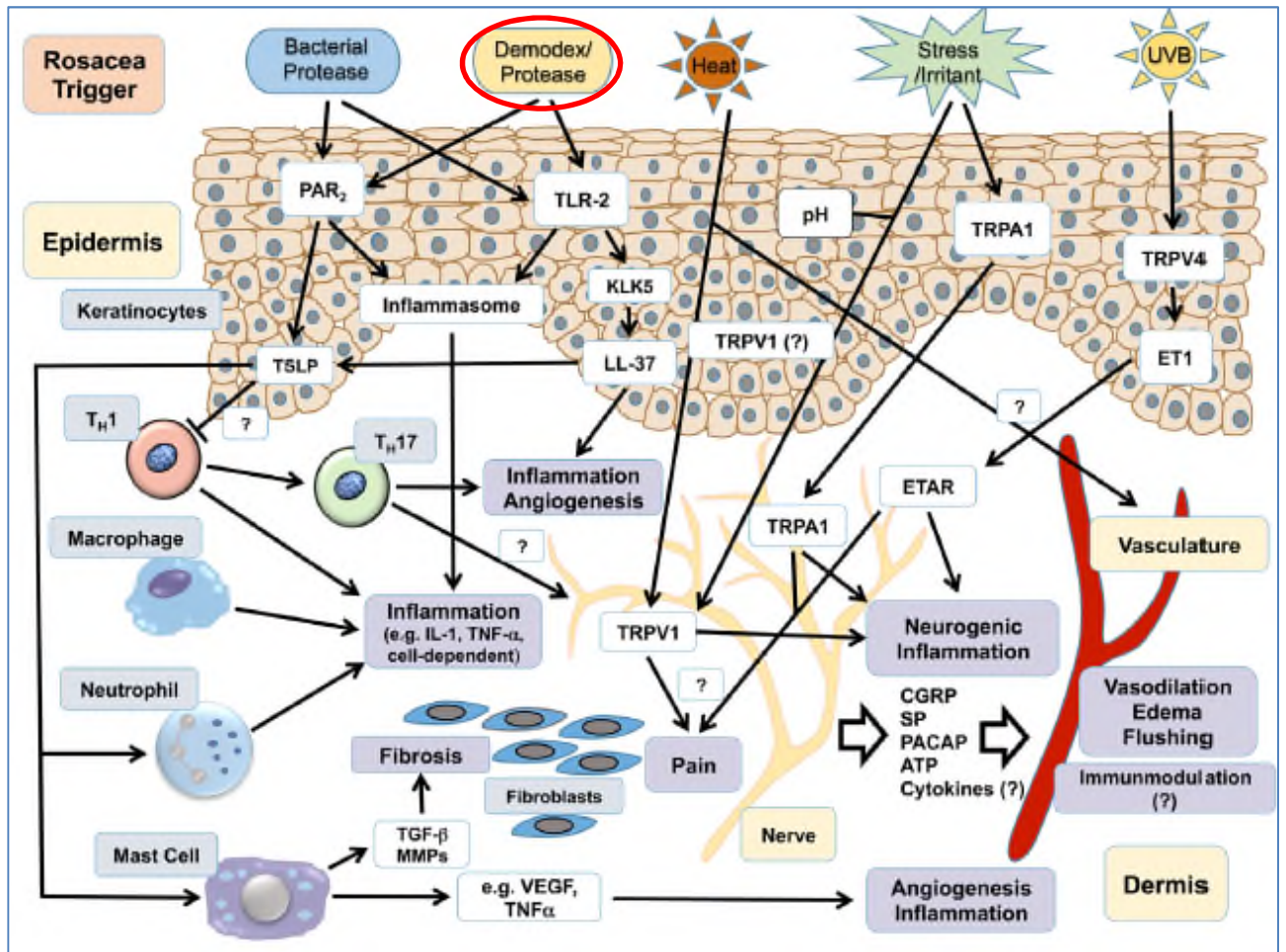


(c) 2016 : Schéma reproduit depuis « Steinhoff M et al. Topical Ivermectin 10mg/g and Oral Doxycycline 40mg Modified-Release: Current Evidence on the Complementary Use of Anti-Inflammatory Rosacea Treatments Adv Ther 2016; 33: 1481-1501 ». ³⁹⁶



(d) 2016 : Schéma reproduit depuis "Woo YR et al. Rosacea: Molecular Mechanisms and Management of a Chronic Cutaneous Inflammatory Condition. Int J Mol Sci. 2016 Sep 15; 17(9)". ⁴²⁴

(e)



(e) 2018 : Les stimuli de la rosacée activent divers récepteurs cellulaires (boîtes blanches) qui déclenchent l'activation d'effecteurs en aval (boîtes blanches) dans divers types de cellules (boîtes grises), qui coopèrent pour stimuler les processus d'inflammation neurogène, aboutissant à l'œdème, la vasodilatation, la fibrose, la douleur et l'angiogenèse (boîtes lilas).³¹⁸

Abbreviations: ATP= adenosine triphosphate; ET1= endothelin-1; ETAR= endothelin A receptor; KLK-5= kallikrein-5; LL-37= cathelicidin; MMP= matrix metalloproteinase; NEUROPEPTIDES = (CGRP= calcitonin gene-related peptide (associé à la migraine), SP= substance P, PACAP= pituitary adenylate cyclase-activating peptide); TGF-β= transforming growth factor-beta; TRP= transient receptor potential; TSLP= thymic stromal lymphopietin; VEGF= vascular endothelial growth factor.

PAR2 = Récepteur cellulaire type 2 activé par la protéinase, est un médiateur connu de la neuroinflammation, du prurit et de la sensation de douleur

Schéma reproduit depuis Buddenkotte J *et al.* Recent advances in understanding and managing rosacea. *F1000Res.* 2018 Dec 3; 7.³¹⁸

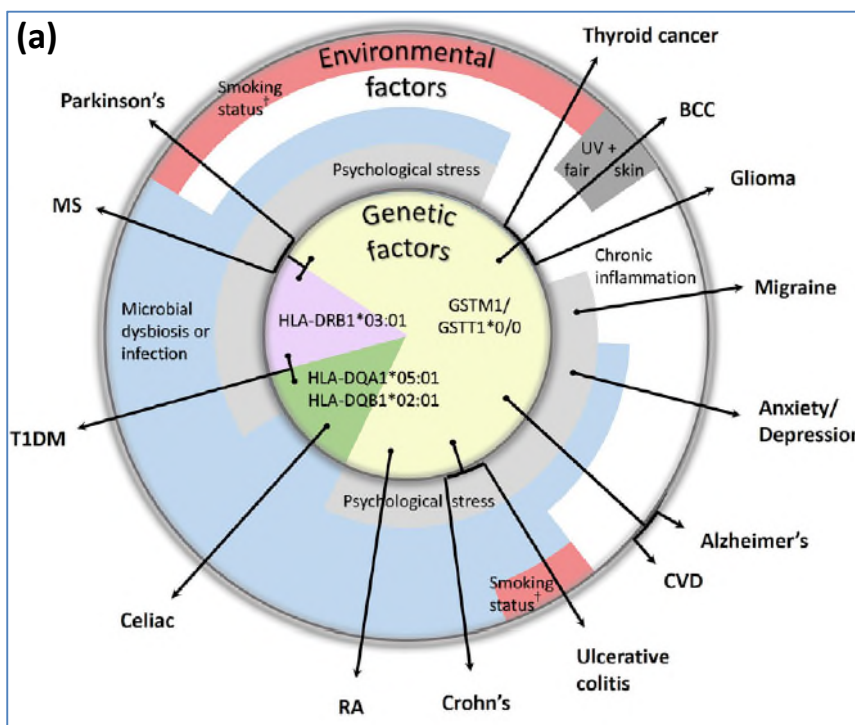
7.5. Paramètres communs entre la rosacée et ses comorbidités

Afin de tenter de comprendre la coexistence de maladies à priori indépendantes avec la rosacée, certains **paramètres communs** ont été mis en évidence:⁴⁶¹

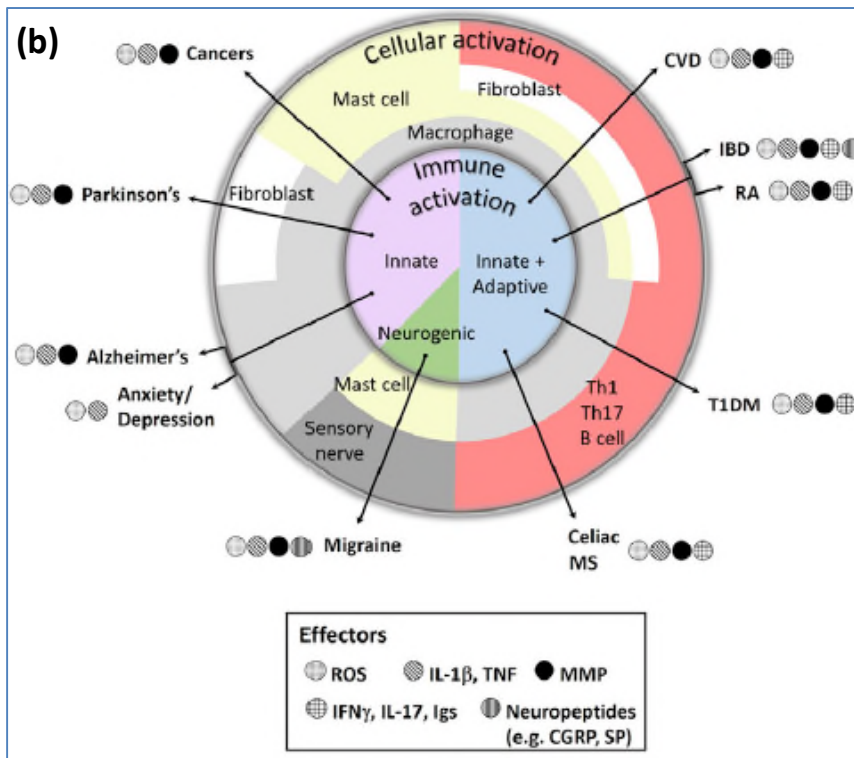
- des **caractéristiques génétiques et des facteurs de risque environnementaux** ;
- certains éléments de **l'inflammation innée**. Par exemple, les macrophages et les médiateurs dérivés des macrophages, les métalloprotéases matricielles, l'IL-1 β et le TNF- α contribuent de manière pathologique à la rosacée et à presque toutes les comorbidités de la rosacée.⁴⁶¹ En revanche, les cathélicidines, pourtant médiateur central de la rosacée, ont été à ce jour reliées à l'artériosclérose et aux désordres métaboliques,⁴⁵⁰ mais non à d'autres comorbidités ;⁴⁶¹
- certains éléments de **l'immunité adaptative** : les lymphocytes Th1, Th17 et B sont pathogènes dans la rosacée, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes, par la production d'interféron, d'IL-17 et d'immunoglobulines.⁴⁶¹

Paramètres communs entre la rosacée et ses comorbidités.

Dans les deux parties de la figure, les comorbidités sont étiquetées en périphérie, à l'extérieur des cercles, tandis que, à l'intérieur des cercles se trouvent, codés par couleur : dans (a), les facteurs de risque génétiques et environnementaux, et dans (b) les réponses immunitaires spécifiques et types de cellules activées. Les facteurs communs sont symbolisés par l'intersection des flèches noires avec des zones codées par couleur. **(a) Facteurs de risques environnementaux (bandes périphériques) et génétiques (partie ronde centrale) communs à la rosacée et à ses comorbidités.**



Abréviations : BCC, carcinome basocellulaire ; CVD, maladie cardiovasculaire ; GST, glutathion-S-transférase ; HLA, leucocyte humain antigène ; MS, sclérose en plaques ; PR, polyarthrite rhumatoïde ; T1DM, diabète sucré de type 1 ; UV, rayonnement ultraviolet. Le tabagisme diminue le risque de rosacée et de comorbidités.



(b) Cellules (bandes périphériques) et types d'immunités (partie ronde centrale) communes à la rosacée et à ses comorbidités.

Les principales molécules inflammatoires communes sont indiquées par de petits cercles grisés, à côté de chaque étiquette de comorbidité individuelle ; leur légende se trouve dans le rectangle.

Abréviations : CGRP, Calcitonin gene-related peptide ; CVD, maladies cardiovasculaires ; MICI, maladies inflammatoires de l'intestin ; IFN, interféron ; Igs, immunoglobulines ; IL, interleukine ; MMP, métalloprotéinase matricielle ; SEP, sclérose en plaques ; RA, polyarthrite rhumatoïde ; ROS, espèces réactives de l'oxygène ; T1DM, diabète sucré de type 1 ; Th, cellule auxiliaire T ; TNF ; facteur de nécrose tumorale ; SP, substance P.

Les deux parties de cette figure sont reproduites depuis « Holmes AD *et al.* Evidence-based update on rosacea comorbidities and their common physiologic pathways. *J Am Acad Dermatol* 2018; 78: 156–166».⁴⁶¹

7.6. Réactions suite aux publications

Certaines des publications ont suscité des réactions d'éditeurs, d'un lecteur, d'un journaliste ou une invitation à un congrès. Nous avons, à titre anecdotique, trouvé intéressant de les rapporter ici : cela fait partie de l'histoire des publications, cela montre aussi ce que les autres voient dans nos travaux, comment ils les comprennent, ce qu'ils jugent important, quels articles les ont le plus fait réagir, et donc probablement le plus intéressés.

7.6.1. Etude globale rétrospective

7.6.1.1. Signes et symptômes

Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms (§ 4.2.4.).⁵⁶⁴

Cet article a été l'objet du choix de l'éditeur dans l'issue mensuelle du journal :

<https://www.medicaljournals.se/acta/content/issue/99-1>

Editor's choice in this issue

INVESTIGATIVE REPORT

Mortality in Patients with Bullous Pemphigoid: A Retrospective Cohort Study, Systematic Review and Meta-analysis

Khalaf Kridin, Wesal Shihade, Reuven Bergman



There is little consensus regarding mortality data in bullous pemphigoid (BP). The aim of this study was to evaluate mortality among a relatively large cohort of Israeli patients with BP and to perform a meta-analysis synthesizing existing data on 1-year mortality rates of patients with BP. This retrospective cohort study of 287 patients diagnosed with BP between 2000 and 2015 compared the mortality ...

Pages: 72-77

[Abstract](#)[HTML](#)[PDF](#)

CLINICAL REPORT

Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms

Fabienne M.N. Forton, Viviane De Maertelaer



Papulopustular rosacea and demodicosis are characterized by non-specific symptoms, which can make clinical diagnosis difficult. This retrospective study of 844 patients assessed the diagnostic importance of clinical signs and symptoms that are poorly recognized as being associated with these conditions. In addition to well-known signs (vascular signs (present in 80% of patients), papules (39%), pu ...

Pages: 47-52

[Abstract](#)[HTML](#)[PDF](#)

All articles

EDITORIAL

[Change of Editor in Chief](#)

Et voici le résumé de l'éditeur :

Acta Dermato-Venereologica Issue 1, 2019

The current issue touches on many crucial topics but especially highlights the following:

- **Mortality in patients with bullous pemphigoid : a retrospective cohort study and meta-analysis** comparing the mortality of patients with bullous pemphigoid (BP) with matched controls. Mortality rates and risk of death were higher in patients with BP. This helps patients be aware of their prognosis and physicians to plan treatment.
- **Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms** highlights the high frequency of discreet follicular scales in patients with rosacea and demodicosis and stresses their value in diagnosis as well as the importance of clinical examination for their detection, when the clinical diagnosis is difficult.

7.6.1.2. **RPP et démodicie pseudo-rosacée**

Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? (§ 4.2.5.).¹⁶¹

7.6.1.2. A. **L'article a été l'objet du choix de l'éditeur dans son bilan annuel**



Acne/Rosacea

Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis have similarity but are mostly considered as distinct entities, because the causal role of demodex mites in rosacea is not generally accepted. In a case-control study of 242 patients with central papulopustular skin lesions, demodex densities were measured on two standard skin surface biopsies. There were greater densities in patients with persistent erythema; they also were linked to the presence of follicular scales but not to papulopustular signs. The authors conclude that rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea should no longer be considered as separate entities but rather as two phenotypes of the same disease.²¹

7.6.1.2. B. **L'EADV nous a demandé de développer le sujet au 16ème congrès de l'EADV à Madrid en octobre 2019, à deux sessions différentes.**

7.6.1.2. C. **L'article a aussi suscité un commentaire, de Tatu, auquel nous avons répondu.** Ce commentaire nous a donné l'occasion de préciser à nouveau certaines choses.

of dinitrochlorobenzene (DNCB) following topical exposure in mice; a similar role for TiO₂ NP in allergic contact dermatitis might be hypothesized, for example, the combination of methylisothiazolinone and TiO₂ NP in cosmetics or paints¹⁰, enhancing the skin penetration of the former and promoting the sensitization and elicitation potential of this biocide.

To conclude, besides genetic factors, environmental variables, such as (cosmetic) contact allergens, might perhaps play a role in the development of FFA and contribute to its rising incidence; however, the exact culprits are yet to be more precisely defined. The potential role of TiO₂ NP as a true cause, a cofactor, or merely a consequence remains to be determined.

O. Aerts,^{1,*} A. Bracke,¹ A. Goossens,² V. Meuleman,³
J. Lambert¹

¹Department of Dermatology, University Hospital Antwerp (UZA), University of Antwerp (UA), Antwerp, Belgium, ²Department of Dermatology, University Hospitals KU Leuven, Leuven, Belgium, ³Private dermatologist, Tielt, Belgium

*Correspondence: O. Aerts. E-mail: olivier.aerts@uza.be

References

- 1 Brunet-Possenti F, Deschamps L, Colboc H *et al.* Detection of titanium nanoparticles in the hair shafts of a patient with frontal fibrosing alopecia. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018 <https://doi.org/10.1111/jdv.14967>.
- 2 Aldoori N, Dobson K, Holden CR, McDonagh AJ, Harries M, Messenger AG. Frontal fibrosing alopecia: possible association with leave-on facial skin care products and sunscreens; a questionnaire study. *Br J Dermatol* 2016; **175**: 762–767.
- 3 Debroy Kidambi A, Dobson K, Holmes S *et al.* Frontal fibrosing alopecia in men: an association with facial moisturizers and sunscreens. *Br J Dermatol* 2017; **177**: 260–261.
- 4 Seegobin SD, Tziotzios C, Stefanato CM, Bhargava K, Fenton DA, McGrath JA. Frontal fibrosing alopecia: there is no statistically significant association with leave-on facial skin care products and sunscreens. *Br J Dermatol* 2016; **175**: 1407–1408.
- 5 Aldoori N, Dobson K, Holden CR, McDonagh AJ, Harries M, Messenger AG. Frontal fibrosing alopecia: there is no statistically significant association with leave-on facial skin care products and sunscreens: reply from the authors. *Br J Dermatol* 2016; **175**: 1408–1409.
- 6 Dhana A, Gumedze F, Khumalo NP. Regarding 'Frontal fibrosing alopecia: possible association with leave-on facial skincare products and sunscreens; a questionnaire study'. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 836–837.
- 7 de Graaf NPJ, Feilzer AJ, Kleverlaan CJ, Bontkes H, Gibbs S, Rustemeyer T. A retrospective study on titanium sensitivity: patch test materials and manifestations. *Contact Dermatitis* 2018. <https://doi.org/10.1111/cod.13010>.
- 8 Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T *et al.* European society of contact dermatitis guideline for diagnostic patch testing – recommendations on best practice. *Contact Dermatitis* 2015; **73**: 195–221.
- 9 Smulders S, Golanski L, Smolders E, Vanoirbeek J, Hoet PH. Nano-TiO₂ modulates the dermal sensitization potency of dinitrochlorobenzene after topical exposure. *Br J Dermatol* 2015; **172**: 392–399.
- 10 Aerts O, Meert H, Goossens A, Janssens S, Lambert J, Apers S. Methylisothiazolinone in selected consumer products in Belgium: adding fuel to the fire? *Contact Dermatitis* 2015; **73**: 142–149.

DOI: 10.1111/jdv.15161

Rosacea-like demodicosis (but not primary demodicosis) and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease – a microbioma, therapeutic and diagnostic tools perspective

The Editor

We would like to thank the authors for their work¹ and also wish to raise certain pertinent issues.

The scope of their research appears to be limited to the effects of *Demodex spp* in rosacea and thus does not consider possible confounding factors such as the effects of *Bacillus oleronius*, which has been isolated from *Demodex folliculorum* and been identified as a trigger of inflammation in rosacea.² Other endosymbionts described as related to *Demodex* are as follows: (i) *Bacillus simplex*, which was isolated from *D. folliculorum* in a patient with primary demodicosis,³ (ii) *Bacillus pumilus*-positive culture and mass spectrometry were found in a patient with rosacea and *D. folliculorum*⁴ and (iii) *Bacillus cereus*, instead of *B. oleronius*, was identified in a patient with secondary demodicosis associated with steroid-induced rosacea-like facial dermatitis in one positive culture.⁵ Would they care to comment on this?

Might topical corticosteroid use not lead to increased mite populations and to unilateral/bilateral manifestations of disease? Thus, what might often be known as demodicosis might be steroid-induced rosacea-like dermatitis. Unilaterality may also arise from facial differences in vascularization, Toll-like receptor 2 (TLR2), interleukins release, cathelicidin LL-37, from the person's sleeping position – the influence of mechanical pressure, solar radiation with solar elastosis affecting the dermal structure and vasculature. The expression of TLR2 gene was found to differ significantly between dogs with localized demodicosis and generalized demodicosis.⁶

The authors used the term follicular scales – this appears unspecific because scales can occur in rosacea due to changes of the epidermal barrier, so they can be follicular or non-follicular and can be seen better by dermoscopy. If we refer to scales representing *Demodex* a better term might be Spinulosis or *Demodex spinulosa* (DS) – clinically fine follicular spicules seen by naked eye or by a lens and better seen and described by dermoscopy as follicular plugs (FP) and *Demodex* tails (DT). The predominance of spinulosis as a sign of the presence of *Demodex* does not explain the unilateral occurrence of inflammatory manifestations because in some patients, the inflammation is totally lacking in both bilateral and unilateral primary DS-a non-inflammatory demodicosis that can also occur in

retroauricular and thoracic areas or could be limited to one region like the nose, or just like an unilateral blepharitis with a fine follicular scaling but there is neither rosacea nor inflammatory phenomena.⁷

The authors did not discuss the effects of systemic tetracycline/doxycycline use for the anti-inflammatory role in rosacea and the lack of effectiveness of cyclines in primary demodicosis.

Forton and De Maertelaer may be right.¹ The argument has been made regarding the need to avoid duplicating phenomena⁸ by creating new diseases when they could in fact be variants of the same disease. Both 'disorders' may be phenotypes of the same disorder. Both have *D. folliculorum*, and both have inflammatory papules and pustules. Demodicosis appears to have a greater tendency towards suppuration, whereas rosacea more towards rhinophyma and hyperplastic lesions. We think that an important way of establishing the truth could be to detect the possible subclinical skin alterations using: (i) Dermoscopy (Demodicosis can appear under dermoscopy as semicircular, oval or triangular, brown, white or grey structures plugging the follicular openings; under 10× magnification, DT resembles creamy gelatinous threads protruding from the follicular openings, ≥3 tails on a dermoscopic area are considered specific for Demodex),³ (ii) Standardized VISIA (Canfield Imaging Systems, Fairfield) RBX™ (Red/Brown/X) the technology allows the identification of areas of red, representing blood or haemoglobin. The vascular changes indicate vascular structures, rosacea⁹ and (iii) Dynamic optical coherence tomography allows an *in vivo* visualization of blood vessels in rosacea. In superficial parts of the skin, it demonstrates a slightly increased number of small dotted vessels corresponding to erythema and in the deeper dermis a broader network corresponding to telangiectasia compared to persons without rosacea.¹⁰

There are no funding sources that supported the work; this article has no funding source.

A.L. Tatu,^{1,2,*}  V.G. Clatici,³ L.C. Nwabudike⁴ 

¹Medical and Pharmaceutical Research Unit/Competitive, Interdisciplinary Research Integrated Platform, "Dunărea de Jos", ReForm-UDJG, Galati, Romania, ²Faculty of Medicine and Pharmacy/Pharmacology Sciences Department, "Dunărea de Jos" University of Galati, Galati, Romania,

³Medlife Group, Dermalife, Bucharest, Romania, ⁴N. Paulescu Institute of Diabetes, Bucharest, Romania

*Correspondence: A.L. Tatu. E-mail: dralin_tatu@yahoo.com

Linked article: This article is commentary on by F. Forton et al., pp. e47–e48 in this issue. To view this article visit <https://doi.org/10.1111/jdv.15162>

References

- 1 Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; **32**: 1011–1016.

- 2 Tatu AL, Nwabudike LC. Reply to: Kubiak K et al. Endosymbiosis and its significance in dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018. <https://doi.org/10.1111/jdv.14921>.
- 3 Tatu AL, Clatici V, Cristea V. Isolation of *Bacillus simplex* strain from *Demodex folliculorum* and observations about Demodicosis spinulosa. *Clin Exp Dermatol* 2016; **41**: 818–820.
- 4 Tatu AL, Ionescu MA, Cristea VC. *Demodex folliculorum* associated *Bacillus pumilus* in lesional areas in rosacea. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2017; **83**: 610–611.
- 5 Tatu AL, Ionescu MA, Clatici VG, Cristea VC. *Bacillus cereus* strain isolated from *Demodex folliculorum* in patients with topical steroid-induced rosaceiform facial dermatitis. *An Bras Dermatol* 2016; **91**: 676–678.
- 6 Kumari P, Nigam R, Choudhury S et al. Demodex canis targets TLRs to evade host immunity and induce canine demodicosis. *Parasite Immunol* 2018; **40**: e12509.
- 7 Tatu AL, Cristea VC. Pityriasis folliculorum of the back thoracic area: pityrosporum, keratin plugs, or *Demodex* involved? *J Cutan Med Surg* 2017; **21**: 441.
- 8 Nwabudike LC, Tatu AL. Reply to Happel R. et al. Koebner's sheep in Wolf's clothing: does the isotopic response exist as a distinct phenomenon? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018. <https://doi.org/10.1111/jdv.14900>.
- 9 Clatici VC, Ursu D, Fica S. Non invasive evaluation of patient with acne and rosacea. Implications in case – management. *RoJCED* 2015; **2**: 168–179.
- 10 Themstrup L, Ciardo S, Manfredi M et al. *In vivo*, micro-morphological vascular changes induced by topical brimonidine studied by dynamic optical coherence tomography. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 974–979.

DOI: 10.1111/jdv.15166

Rosacea-like demodicosis and papulopustular rosacea may be two phenotypes of the same disease, and pityriasis folliculorum may be their precursor: response to the comment of Tatu

Editor

We thank Tatu *et al.* for their comment¹ on our recent article² in which they agree with the idea that rosacea-like demodicosis (RLD) and papulopustular rosacea (PPR) may be two phenotypes of the same disease.

Tatu *et al.*¹ raise the question of the potential role of some of the numerous species of bacteria³ inadvertently ingested by Demodex that could potentially influence its behaviour. We did not explore this interesting hypothesis in our study but agree that this and other types of interactions, such as those of *Staphylococcus epidermidis*,⁴ are important areas for future study.

The role of topical corticosteroids on Demodex proliferation and the lack of effect of tetracyclines on pityriasis folliculorum are interesting questions, but were beyond the scope of our study.² In our experience, PPR/RLD is not steroid-induced in most patients: in the original cohort from which we obtained the patients in the recently published substudy,² of 254 patients with symptoms suggestive of PPR, only five had steroid-induced rosacea;⁵ these patients were not included in the present analysis of 242 patients.² It is not surprising that cyclines lack effectiveness in pityriasis folliculorum as their action in PPR is essentially anti-inflammatory and pityriasis folliculorum is not (or only mildly) inflammatory.

We agree with Tatu *et al.* that both follicular and non-follicular scales can be encountered in PPR,^{1,6} but it is the follicular scales that are most relevant to the clinical diagnosis.⁷ Although the term 'follicular scales', used in the original description of the disease,⁷ is non-specific, we are not convinced that 'spinulosis'¹ is any less so, because both terms are purely descriptive. Although highly indicative of demodicosis, this clinical appearance can also be found in trichostasis, extruded comedones or ulerythema ophryogenes (sometimes along with Demodex mites). The double standardized skin surface biopsy can be used as a diagnostic test: it confirms that the scales correspond well to opisthosomes of Demodex protruding from the follicular orifices, and not to blackheads, keratinocytes or hairs, and, at the same time, quantitates their density.⁵ By contrast, dermatoscopy, suggested by Tatu *et al.*,¹ has a much lower resolution and has not, to our knowledge, been shown to be able to differentiate clearly between extruded blackheads, trichostasis, hyperkeratosis and Demodex.

Finally, Tatu *et al.*¹ mention that the proliferation of Demodex mites may or may not cause an inflammatory reaction. Indeed, Demodex mites can both suppress and enhance the host immune response,^{8,9} and the balance between these effects likely determines the clinical symptoms: if immunosuppressive effects predominate, pityriasis folliculorum occurs,^{4,10} whereas if immunostimulation is predominant, papules or pustules can occur superimposed on the follicular scales of pityriasis folliculorum, either in isolation (demodectic folliculitis, isolated inflammatory papule), scattered unilaterally on one cheek (typically RLD) or present bilaterally (typically PPR).^{2,4,6} In contrast to Tatu *et al.*, we therefore believe that unilateral proliferation of

the parasite can explain the unilateral occurrence of inflammatory lesions.²

F. Forton,^{1,*}  V. De Maertelaer²

¹Dermatology, Private Practice, Brussels, Belgium, ²Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie Humaine et Moléculaire (IRIBHM), Service de Biostatistique et Informatique Médicale (SBIM), Free University of Brussels (ULB), Brussels, Belgium

*Correspondence: F. Forton. E-mail: fabienne.forton@skynet.be

Linked article: This article is commented on by A.L. Tatu *et al.*, pp. e46–e47 in this issue. To view this article visit <https://doi.org/10.1111/jdv.15166>

References

- 1 Tatu AL, Clatici VG, Nwabudike LC. Rosacea-like demodicosis (but not primary demodicosis) and papulo pustular rosacea may be two phenotypes of the same disease—a microbioma, therapeutic and diagnostic tools perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018. <https://doi.org/10.1111/jdv.15166>.
- 2 Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; **32**: 1011–1016.
- 3 Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of Demodex mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog* 2014; **71–72**: 37–40.
- 4 Forton F. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; **26**: 19–28.
- 5 Forton FMN, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**: 242–248.
- 6 Forton F, Germaux MA, Brasseur T *et al.* Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- 7 Ayres S. Pityriasis folliculorum (Demodex). *Arch Derm Syphilol* 1930; **21**: 19–24.
- 8 Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018. <https://doi.org/10.1111/bjd.16540>.
- 9 Forton FMN. Elucidating the role of Demodex folliculorum in the pathogenesis of rosacea: exciting first steps. *Br J Dermatol* 2018. <https://doi.org/10.1111/bjd.16792>.
- 10 Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC *et al.* Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**: 829–832.

DOI: 10.1111/jdv.15162

7.6.1.3. Démodécies subcliniques

Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis. A case control study (§ 4.2.6.).⁵⁶⁵

7.6.1.3. A. L'article a été l'objet de l'éditorial du BJD⁷³

L'éditeur suggère que **l'inflammation pourrait être primaire** et responsable de l'altération de la barrière cutanée, ce qui favoriserait secondairement la pullulation des parasites, à l'instar de la dermatite atopique qui se surinfecte par le staphylocoque doré.⁷³

D'après l'éditeur, nous penserions que « le Demodex peut jouer un **rôle central dans l'étiopathogénie de la RET** », ce qui n'est pas tout à fait exact, du moins si on considère la RET pure, sans prolifération en Demodex. En réalité, nous émettons l'hypothèse qu'il joue un rôle central dans l'étiopathogénie de la RPP, car il est, pour nous, responsable des papulopustules de la rosacée. Sa prolifération peut donc favoriser l'évolution de la RET vers la RPP. Et nous pensons qu'il joue bien un rôle important dans la RET, mais non « central », puisque, d'après les données actuelles, une RET peut aussi se développer pour une autre raison, sans qu'il y ait au départ prolifération en parasites.

Are demodex mites the best target for rosacea treatments?

DOI: 10.1111/bjd.18344

Linked Article: Forton and De Maertelaer *et al.* *Br J Dermatol* 2019; **181**:818–825.

In this issue of the *BJD*, Forton and De Maertelaer show that the density of demodex mites in cheek skin was three- to eightfold higher in patients with erythematotelangiectatic rosacea (ETR) compared with healthy controls.¹ However, the density of demodex mites in patients with ETR was about fivefold lower than in patients with papulopustular rosacea who were measured in a previous study. The authors rightfully conclude that demodex mites may play a central role in the aetiopathogenesis of ETR, but it remains unclear whether mite proliferation has a primary, secondary or even tertiary role and whether targeting these is a good strategy.

Recently, a phenotype-based approach was introduced to diagnose rosacea leaving the old classification system including ETR, papulopustular, ocular and phymatous rosacea partly obsolete.² However, the old system remains useful for clinicians and was also applied in the present study by Forton and De Maertelaer. In this classification system, ETR and papulopustular rosacea are two relatively distinct clinical subtypes, but clinicians will agree that patients with rosacea may have mixed patterns of these, and that in some people there is a change from one subtype to the other over time.

At least in theory, ETR and papulopustular rosacea can be regarded as representing a disease severity continuum, which also would explain the higher densities of demodex in the latter. Demodex mites are obligate commensals rather than parasitic in normal adults. They are found in skin areas with high sebum production, and typically reside in hair follicles, but may leave these at night to find new ones. The mites feed on sebum, but will eventually burst and result in release of toxins and bacteria. This may in turn activate the innate immune response and induce or worsen rosacea.

The use of topical ivermectin or another demodex-killing drug, such as permethrin, is useful to reduce symptoms of papulopustular rosacea as shown in recent trials,^{3,4} but the evidence for their use in ETR is not available. The study by Forton and De Maertelaer is therefore important as it emphasizes that demodex mites exist even in ETR. However, just because the mites are present, this does not lead to the conclusion that topical ivermectin or another mite-killing drug will work to reduce disease severity in patients with ETR. However, it is possible that by targeting demodex, the progression of ETR to papulopustular rosacea could be prevented. We simply do not know.

Similar to atopic dermatitis (AD), rosacea shows concomitant skin barrier impairment, inflammation and colonization with microorganisms. For AD, *Staphylococcus aureus* growth increases with disease severity (and loss of control), but AD only resolves intermittently by the use of antibiotics. Therefore, the use of antibiotics in AD is not a wise strategy. Instead dermatologists use barrier-enhancing and anti-inflammatory therapy with good results leading to reduction of bacterial growth. It is by all means possible that the pathogenesis of rosacea is similar, i.e. the skin inflammation and the associated skin barrier impairment are the main drivers of the disease and with demodex mites increasing in numbers as the disease progresses and disease control is lost. The primary target in rosacea should then be the inflammation as well as impaired skin barrier rather than the mites.

There is a strong need for more research in rosacea pathogenesis, and in particular, we need prospective cohort studies with repeated measurements to identify the temporal development of pathogenic changes taking into consideration skin inflammation and skin barrier impairment as well demodex proliferation. In particular, we need to study immune reactivity in more detail to identify new treatment targets. While endotypes of rosacea have not yet been identified, the neuroinflammatory aspect of rosacea, especially in ETR, is being increasingly recognized. Drugs that are under development for migraine may possibly find their way into rosacea treatment as well. If, or when, this happens, we are likely to learn much more about the pathogenic role of demodex in rosacea.

Funding sources

J.P.T. is supported by an unrestricted grant from the Lundbeck Foundation.

Conflicts of interest

None to declare.

Department of Dermatology and Allergy,
Herlev and Gentofte Hospital, University of
Copenhagen, Hellerup, Denmark
E-mail: jacob.p.thyssen@regionh.dk

J.P. THYSSEN 

References

- 1 Forton F, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case-control study. *Br J Dermatol* 2019; **181**:818–25.

2 Gallo RL, Granstein RD, Kang S et al. Standard classification and pathophysiology of rosacea: the 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; 78:148–55.

3 Raoufinejad K, Mansouri P, Rajabi M et al. Efficacy and safety of permethrin 5% topical gel vs. placebo for rosacea: a double-blind

randomized controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; 30:2105–17.

4 Stein L, Kircik L, Fowler J et al. Efficacy and safety of ivermectin 1% cream in treatment of papulopustular rosacea: results of two randomized, double-blind, vehicle-controlled pivotal studies. *J Drugs Dermatol* 2014; 13:316–23.

7.6.1.3. B. Il a été l’objet d’un article dans le « dermatology times » :



Subclinical mite proliferation linked with rosacea subtype

CHERYL GUTTMAN KRADER | Staff Correspondent

Quick TAKES

A new study shows high *Demodex* density in the facial skin of patients with erythematotelangiectatic rosacea.

The researchers propose sampling to detect demodicosis in patients with ETR — if it is found, initiating topical acaricidal treatment.

Whether *Demodex* is involved in ETR pathogenesis and a role for acaricidal treatment is still controversial.

Look for subclinical demodicosis in patients presenting with erythematotelangiectatic rosacea (ETR), one expert says, because it may represent a therapeutic target for both resolving some signs and symptoms of ETR and perhaps preventing evolution to papulopustular disease.

“Abnormal proliferation of the *Demodex* mites is frequent among patients with ETR, but it is not always visible to the naked eye,” says Fabienne Forton, M.D., Brussels, Belgium. “Therefore the diagnosis of demodicosis should be considered and *Demodex* density investigated in any patient consulting for ETR or unexplained subjective complaints that overlap with those of ETR, such as pruritus, burning and hypersensitivity of the facial skin or even of the scalp.”

Although studies investigating the association between infestation with *Demodex* mites and rosacea have generated conflicting findings, a meta-analysis published in 2017 found that *Demodex* density was significantly higher in patients with papulopustular rosacea (PPR) as well as those with ETR compared with healthy controls.¹ A comparison between the two rosacea cohorts showed that the level of infestation tended to be higher in the subgroup with PPR.¹ Dr. Forton and colleague Viviane De Maertelaer, Ph.D., report the same findings in a more recent study.²

If high *Demodex* density is confirmed, Dr. Forton recommends considering treatment with a topical acaricidal while continuing to monitor *Demodex* density.

“In our experience, monotherapy with a topical acaricidal to normalize *Demodex* density may eliminate burning sensation, pruritus, sensitive skin. Although, of course, it does not affect telangiectasias, it may even sometimes improve erythema and flushing and obviate the need for any additional

interventions,” says Dr. Forton.

“By preventing further proliferation of the mites, topical acaricidal treatment might also avoid the subsequent immune reaction against these mites and, so, development of PPR.”

In previous research, Drs. Forton and De Maertelaer showed that *Demodex* density was significantly higher in patients with PPR or demodicosis compared with healthy controls or patients with other facial dermatoses and similar in the PPR and demodicosis groups.³

To investigate the presence of demodicosis in patients with ETR, they undertook a retrospective study comparing *Demodex* density measured in two consecutive standardized skin surface biopsies in groups of patients with ETR (n=23), demodicosis (n=590), PPR (n=254), other facial dermatoses (n=180) and healthy controls (n=20).² They found that the mean *Demodex* density in the ETR group was significantly greater than that of both the healthy controls and patients with other dermatoses, but significantly less than that of both the PPR and demodicosis groups. Mean *Demodex* density was approximately eight-fold higher in patients with ETR compared with the healthy controls, and there was an even greater difference between the *Demodex* density values in the ETR group and the patients with other dermatoses. Mean *Demodex* densities in the patients with PPR and demodicosis were approximately five- to six-fold greater than in the patients with ETR.

“Notably, 10 (43%) of the 23 ETR patients had *Demodex* density values that were shown in our previous research to have very high sensitivity and specificity for diagnosing demodicosis and PPR,” Dr. Forton says.

Based on their findings, Dr. Forton and Dr. De Maertelaer suggest that *Demodex* proliferation may start in ETR or ETR

Image © iStockphoto/Adobe.com

may favor *Demodex* proliferation. Thereafter, the numerous mites, which eat human cells, disrupt the follicular epithelium and thereby induce the immune reaction observed in PPR. Afterwards, this inflammatory reaction, including vasodilation, exacerbates the ETR, setting up a vicious circle.

“The pathogenic role of *Demodex* mites in rosacea is further supported by evidence that the mites can trigger a host immune response by activating Toll-like receptor 2, as recently demonstrated by Lacey et al.⁵ in the first prospective experimental study in this field,” Dr. Forton says.

MANAGEMENT IMPLICATIONS

Dr. Forton adds that she has been evaluating patients for demodicosis and rosacea for approximately 20 years and had achieved excellent results treating them with topical benzyl benzoate 20% cream. After *Demodex* density is normalized and symptoms have disappeared, she continues with maintenance therapy, having patients apply the same cream once a week to prevent repopulation of the mites and symptom relapse.

Now that topical ivermectin is commercially available; however, Dr. Forton says it has become her treatment of choice, because it is better tolerated than benzyl benzoate, which is a potential irritant and also has anti-inflammatory activity in addition to being acaricidal.

“Ivermectin also has anti-inflammatory activity, but the fact that benzyl benzoate is only acaricidal and still effective for improving the symptoms of PPR further supports the idea that *Demodex* has a key role in the pathophysiology of rosacea,” she explains.

“I believe that through their experience with

the effective use of ivermectin to treat rosacea, the idea of targeting *Demodex* infestation to treat rosacea is gaining greater acceptance among dermatologists,” Dr. Forton says

SAMPLING TECHNIQUE

Dr. Forton uses the standardized skin surface biopsy for identifying abnormal *Demodex* proliferation. This is a non-bloody sampling method in which the superficial part of the skin and the superficial part of the follicular content are sampled, similar to hair removal with glue.

“This technique is generally well-tolerated by patients, inexpensive and readily available to all dermatologists,” Dr. Forton says.

Over the years, she has refined the sampling methodology to minimize false negatives. In her current approach, she uses ether to clean the skin and the biopsy slide, and then she takes two consecutive standardized biopsies from the same area. High *Demodex* density is defined by the finding of “>5 mites/cm² on the first biopsy or >10 mites/cm² on the second biopsy.”³

The preliminary cleaning of the skin and slide with ether makes it possible to remove the layer of sebum and potential sweat, thus increasing the adhesion of the glue and standardizing the sampling conditions. The second biopsy, which goes deeper, allows increased volume of the analyzed biotope of the mite, generally collecting twice as many mites as the first biopsy, she explains.

ANOTHER PERSPECTIVE

In an editorial commenting on the study by Drs. Forton and De Maertelaer, Jacob P. Thyssen, M.D., professor, Department of Dermatol-

ogy and Allergy, University of Copenhagen, Hellerup, Denmark, wrote that the research is important because it shows that *Demodex* density is elevated even in patients with ETR. However, he cautioned against concluding that a topical acaricidal will be effective treatment for ETR.

Dr. Thyssen noted that it remains unclear whether the abnormal mite proliferation is a primary, secondary or even a tertiary event in ETR. Using *Staphylococcus aureus* overgrowth on the skin of patients with atopic dermatitis as an analogy, he observed that increased density of *Demodex* in rosacea may arise as a consequence of skin barrier impairment and inflammation rather than being the primary cause. With that in mind, Dr. Thyssen proposed that barrier impairment and inflammation should be the primary targets for therapeutic intervention.

“There is a strong need for more research to elucidate the pathogenesis of rosacea, and this research should include prospective cohort studies to determine the time course of development of skin inflammation, barrier impairment and *Demodex* proliferation,” Dr. Thyssen says. ◀

References

1. Chang YS, Huang YC. Role of *Demodex* mite infestation in rosacea: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(3):441-447.
2. Forton F, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case-control study. *Br J Dermatol*. 2019;181(4):818-825.
3. Forton FM, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate *Demodex* density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol*. 2017;97(2):242-248.
4. Thyssen JP. Are *Demodex* mites the best target for rosacea treatments? *Br J Dermatol*. 2019;181(4):652-653.
5. Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, et al. *Demodex* mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol*. 2018;179:420-430.



“The pathogenic role of *Demodex* mites in rosacea is further supported by evidence that the mites can trigger a host immune response by activating Toll-like receptor 2.” Fabienne Forton, M.D., Brussels

Celui-ci est disponible en ligne :

<https://www.dermatologytimes.com/rosacea/subclinical-mite-proliferation-linked-rosacea-subtype>

7.6.1.4. Traitement : les 2 premières mesures

Le magazine belge « Résumé » a sélectionné notre article⁵⁶² dans son numéro de mars (3/2020), en y publiant le résumé traduit.

Notons que le terme « demodicosis » y a malheureusement été traduit improprement par « démodécidose » (§ 1.3.1.1.).



Resumé

Le benzoate de benzyle, un traitement efficace de la rosacée et de la démodécidose ?

Effets de différentes doses sur la densité du Demodex et les symptômes cliniques

Les patients atteints de rosacée ou de démodécidose présentent des densités élevées de Demodex sur la peau du visage. Il a été démontré que l'ivermectine topique, le benzoate de benzyle (BB) et le crotamiton diminuaient la densité du Demodex in vivo, mais il existe cependant peu de

données sur les effets cliniques et acaricides du BB chez les patients atteints de rosacée. Le but de cette étude était d'évaluer l'impact du traitement topique par BB (+ crotamiton) sur la densité du Demodex et sur les symptômes cliniques de la rosacée et de la démodécidose, ainsi que de comparer trois schémas thérapeutiques différents à base de BB. Dans cette étude observationnelle rétrospective, 394 patients (117 avec une rosacée, 277 avec une démodécidose) ont été inclus. Trois dosages thérapeutiques à base de BB (+ crotamiton) ont été comparés : 12% une fois par jour, 12% deux fois par jour et 20% une fois par jour. Les densités du Demodex sur la peau du visage ont été mesurées à l'aide de deux biopsies cutanées superficielles (scotch test) standardisées consécutives (superficielle [BCSS1] et profonde [BCSS2]) avant le traitement et lors du premier rendez-vous de suivi. Les symptômes ont été évalués à l'aide de l'évaluation globale de l'investigateur. Le traitement était considéré comme efficace si la densité de Demodex se normalisait ($BCSS1 \leq 5$ Demodex/cm² ET $BCSS2 \leq 10$ Demodex/cm²) ou si les symptômes disparaissaient. Le traitement était considéré comme curatif si la densité de Demodex se normalisait ET si les symptômes disparaissaient.

En moyenne 2,7 mois après le début du traitement, la densité totale de Demodex ($BCSS1 + 2$) avait diminué de $72,4 \pm 2,6\%$ par rapport à sa

valeur initiale pour l'ensemble de la cohorte. La densité de Demodex s'était normalisée chez 139 patients (35%) et les symptômes avaient disparu chez 122 (31%) patients.

“Le traitement topique par benzoate de benzyle est efficace contre la rosacée et la démodécidose”

Le traitement s'est montré efficace chez 183 (46%) patients et curatif chez 78 (20%) patients.

La compliance était bonne : 77%

des patients ont correctement suivi les instructions thérapeutiques. Les résultats étaient similaires chez les patients atteints de rosacée et ceux atteints de démodécidose. Le schéma de BB à 12% une fois par jour était moins efficace que les autres schémas thérapeutiques et était associé à une moins bonne compliance par rapport au schéma de BB à 12% deux fois par jour.

En conclusion, le traitement topique par BB (+ crotamiton) peut être un traitement efficace pour la rosacée et la démodécidose, soutenant de manière indirecte le rôle clé de l'acarien dans la physiopathologie de la rosacée. Les deux schémas thérapeutiques à doses plus élevées étaient plus efficaces par rapport à la dose plus faible.

Journal: Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology

Auteur: F M N Forton¹, V De Maertelaer.

Adresse: 1Dermatology Clinic, Brussels, Belgium.

Étude: Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms.

Source: J Eur Acad Dermatol Venereol 2020 Feb;34(2):365-369. doi: 10.1111/jdv.15938. Epub 2019 Oct 17

7.6.2. Articles le plus souvent cités

Une revue récente⁶¹¹ a analysé les citations des articles concernant la rosacée et observe que 3 de nos anciennes publications sont parmi les 100 citations les plus citées en ce qui concerne la rosacée :

- en 5° place : 1993 : La SSSB : la densité en Demodex normale ≤ 5 Demodex/cm²,⁵¹
- en 19° place : 2005 : Les démodécies sont fréquentes,¹²⁶
- en 45° Place : 2012 : Pityriasis folliculorum : chaînon manquant entre le D et la RPP.²⁰⁵

Si on tient du nombre moyen de citations par année, ils arrivent respectivement en 33^{ème}, 31^{ème} et 22^{ème} places.⁶¹¹

8) REFERENCES

Les données citées dans notre thèse réfèrent en général aux articles originaux, surtout en ce qui concerne le cœur du sujet. Pour des sujets plus périphériques, comme les traitements ou les articles concernant l'immunologie et la neurologie, nous nous sommes plus souvent référés à des revues citant les études originales, sans remonter à la source.

- 1 Fuss F. La vie parasitaire du *Demodex folliculorum hominis*. *Ann Derm Syph (Paris)* 1933; **4**: 1053–62.
- 2 Ayres S. Rosacea-like demodicidosis. *Calif Med* 1963; **98**: 328–330.
- 3 Blackmar FB. Pigmentation of roots of cilia caused by acarus *Demodex folliculorum*. *Am J Ophthalmol* 1929; **12**: 373–375.
- 4 Coston TO. *Demodex folliculorum* blepharitis. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1967; **65**: 361–392.
- 5 Kaufmann-Wolf M. Über regelma Biges Vorkommen von *Demodex folliculorum* in den Pusteln von *Rosacea pustulosa*. *Dermatol Wochenschr* 1925; **30**: 1095–1103.
- 6 Ayres S. Pityriasis folliculorum (*Demodex*). *Arch Dermatol Syphilol* 1930; **21**: 19–24.
- 7 Ayres S, Anderson NP. Acne rosacea: response to local treatment for *Demodex folliculorum*. *J Am Med Assoc* 1933; **100**: 645–647.
- 8 Moschella SL, Pillsbury DM, Hurley HJ. *Dermatology*. Saunders: Philadelphia, 1975.
- 9 Rook A, Wilkinson D, Ebling F. *Textbook of Dermatology*. 3rd Edition edition. Blackwell Scientific Publications: Oxford; St. Louis, Mo., 1979.
- 10 Degos R. *Dermatologie*. Flammarion Médecine-Sciences, 1981.
- 11 Wilkin JK. Rosacea. Pathophysiology and treatment. *Arch Dermatol* 1994; **130**: 359–362.
- 12 Grosshans E, Kremer M, Maleville J, Wanner R. Du rôle des *Demodex folliculorum* dans l'histogénèse de la rosacée granulomateuse. *Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr* 1972; **79**: 639–646.
- 13 Ayers S, Mihan R, Marks R, Harcourt-Webster JN. *Demodex folliculorum* in rosacea. *Arch Dermatol* 1970; **101**: 706–707.
- 14 Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; **15**: 79–98.
- 15 Desch C, Nutting W. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acarologia (Paris)* 1977; **19**: 422–62.
- 16 DEMODEX : Etymologie de DEMODEX. <https://www.cnrtl.fr/etymologie/demodex> (accessed 8 Apr2020).
- 17 Norn MS. *Demodex folliculorum*. *Br J Ophthalmol* 1972; **56**: 140.
- 18 Desch CE. Human hair follicle mites and forensic acarology. *Exp Appl Acarol* 2009; **49**: 143–146.

- 19 Norn MS. Demodex folliculorum. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol Suppl* 1970; **108**: 7–85.
- 20 Trombidiformes. <http://tolweb.org/Trombidiformes#Characteristics> (accessed 9 Apr2020).
- 21 Demodex folliculorum (Simon, 1842). Inventaire Natl. Patrim. Nat. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/840343 (accessed 9 Apr2020).
- 22 Litwin D, Chen W, Dzika E, Korycinska J. Human Permanent Ectoparasites; Recent Advances on Biology and Clinical Significance of Demodex Mites: Narrative Review Article. *Iran J Parasitol* 2017; **12**: 12–21.
- 23 Izdebska JN, Rolbiecki L. The Biodiversity of Demodecid Mites (Acariformes: Prostigmata), Specific Parasites of Mammals with a Global Checklist and a New Finding for Demodex sciurinus. *Diversity* 2020; **12**: 261.
- 24 Nutting WB. Host-parasite relations: Demodicidae. *Acarologia* 1965; **7**: 301–317.
- 25 Nutting WMB, Andrews JRH, Desch CE. Studies in symbiosis: hair follicle mites of mammals and man. *J Biol Educ* 2010. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00219266.1979.9654274> (accessed 9 Apr2020).
- 26 Thoemmes MS, Fergus DJ, Urban J, Trautwein M, Dunn RR. Ubiquity and Diversity of Human-Associated Demodex Mites. *PLoS ONE* 2014; **9**: e106265.
- 27 Ayres S. Demodex folliculorum as a pathogen. *Cutis* 1986; **37**: 441.
- 28 Spickett SG. Studies on Demodex folliculorum simon (1842). I. Life history. *Parasitology* 1961; **51**: 181–192.
- 29 Spickett SG. Aetiology of rosacea. *Br Med J* 1962; **1**: 1625.
- 30 Desch C, Nutting WB. Demodex folliculorum (Simon) and D. brevis akbulatova of man: redescription and reevaluation. *J Parasitol* 1972; **58**: 169–177.
- 31 Zhao Y, Guo NA, Li C, Lu Z. The dynamic observation of the morphologic structure and activity of human Demodex in different stages. *Chin J Vector Bio Control* 2007; **18**: 120–123.
- 32 Zhao Y-E, Hu L, Ma J-X. Molecular identification of four phenotypes of human Demodex mites (Acari: Demodicidae) based on mitochondrial 16S rDNA. *Parasitol Res* 2013; **112**: 3703–3711.
- 33 Rufli T, Mumcuoglu Y. The Hair Follicle Mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: Biology and Medical Importance. *Dermatology* 1981; **162**: 1–11.
- 34 Hellerich U, Metzelder M. [Incidence of scalp involvement by Demodex folliculorum Simon ectoparasites in a pathologic-anatomic and forensic medicine autopsy sample]. *Arch Kriminol* 1994; **194**: 111–118.
- 35 Norn MS. Demodex folliculorum. Incidence, regional distribution, pathogenicity. *Dan Med Bull* 1971; **18**: 14–17.
- 36 Du Bois C. Recherche du Demodex folliculorum hominis dans la peau saine. *Ann Dermatol Syph* 1910; **1**: 188–190.

- 37 Roth AM. Demodex folliculorum in hair follicles of eyelid skin. *Ann Ophthalmol* 1979; **11**: 37–40.
- 38 Aylesworth R, Vance JC. Demodex folliculorum and Demodex brevis in cutaneous biopsies. *J Am Acad Dermatol* 1982; **7**: 583–589.
- 39 Andrews JR. The prevalence of hair follicle mites in caucasian New Zealanders. *N Z Med J* 1982; **95**: 451–453.
- 40 Zhao Y, Guo N, Xun M, Xu J, Wang M, Wang D. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of Demodex infestation (Acari: Demodicidae). *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; **12**: 998–1007.
- 41 Sengbusch HG, Hauswirth JW. Prevalence of Hair Follicle Mites, Demodex Folliculorum and D. Brevis (Acari: Demodicidae), in a Selected Human Population in Western New York, USA. *J Med Entomol* 1986; **23**: 384–388.
- 42 Sędzikowska A, Osęka M, Grytner-Zięcina B. Ocular symptoms reported by patients infested with Demodex mites. *Acta Parasitol* 2016; **61**: 808–814.
- 43 Koo H, Kim TH, Kim KW, Wee SW, Chun YS, Kim JC. Ocular surface discomfort and Demodex: effect of tea tree oil eyelid scrub in Demodex blepharitis. *J Korean Med Sci* 2012; **27**: 1574–1579.
- 44 Zeytun E, Karakurt Y. Prevalence and Load of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in Patients With Chronic Blepharitis in the Province of Erzincan, Turkey. *J Med Entomol* 2019; **56**: 2–9.
- 45 Breckenridge RL. Infestation of the Skin With Demodex Folliculorum. *Am J Clin Pathol* 1953; **23**: 348–352.
- 46 Riechers R, Kopf AW. Cutaneous infestation with Demodex folliculorum in man. *J Invest Dermatol* 1969; **52**: 103–106.
- 47 Nutting WB, Green AC. Pathogenesis associated with hair follicle mites (Demodex spp.) in Australian Aborigines. *Br J Dermatol* 1976; **94**: 307–312.
- 48 Norn MS. Incidence of Demodex folliculorum on skin of lids and nose. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2009; **60**: 575–583.
- 49 Forton, Song. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of Demodex folliculorum. A case report. *Br J Dermatol* 1998; **139**: 697–700.
- 50 Forton F. Standardized skin surface biopsy: method to estimate the Demodex folliculorum density, not to study the Demodex folliculorum prevalence: Letters to the editor. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007; **21**: 1301–1302.
- 51 Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993; **128**: 650–659.
- 52 Nutting WB, Beerman H. Demodicosis and symbiophobia: status, terminology, and treatments. *Int J Dermatol* 1983; **22**: 13–17.
- 53 Gmeiner F. Demodex folliculorum des Menschen und der Tiere. *Arch Derm Syphilol* 1908; **92**: 25–96.

- 54 Nutting WB. Hair follicle mites (Demodex spp.) of medical and veterinary concern. *Cornell Vet* 1976; **66**: 214–231.
- 55 Bonnar E, Eustace P, Powell FrankC. Demodex mite in normal skin. *The Lancet* 1991; **337**: 1168.
- 56 Sibenge S, Gawkrödger DJ. Rosacea: A study of clinical patterns, blood flow, and the role of Demodex folliculorum. *J Am Acad Dermatol* 1992; **26**: 590–593.
- 57 Hojyo Tomoka MT, Dominguez Soto L. Demodecidosis y dermatitis rosaceiforme. *Med Cutan Ibero Lat Am* 1976; : 83–90.
- 58 Škrilin J, Richter B, Basta-Juzbašić A, Matica B, Ivačić B, Cvrlje M *et al.* Demodicosis and rosacea. *The Lancet* 1991; **337**: 734.
- 59 Ayres S, Anderson NP. Demodex folliculorum: its role in the etiology of acne rosacea. *Arch Dermatol Syphilol* 1932; **25**: 89–98.
- 60 Nutting W, Firda K, Desch CJ. Topology and histopathology of hair follicle mites (demodicidae) of man. In: *Progress in Acarology*. Oxford & IBH Publishing CO.PVT.LTD.: New Delhi, Bombay, Calcutta, 1989, pp 113–121.
- 61 Palopoli MF, Fergus DJ, Minot S, Pei DT, Simison WB, Fernandez-Silva I *et al.* Global divergence of the human follicle mite Demodex folliculorum: Persistent associations between host ancestry and mite lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; **112**: 15958–15963.
- 62 Jing X, Shuling G, Ying L. Environmental scanning electron microscopy observation of the ultrastructure of Demodex. *Microsc Res Tech* 2005; **68**: 284–289.
- 63 Bukva V, Nutting WB, Desch CE. Description of Ophthalmodex apodemi sp. n.(Acari: Demodecidae) from the ocular area of Apodemus sylvaticus (Rodentia: Muridae) with notes on pathogenicity. *Int J Acarol* 1992; **18**: 269–276.
- 64 Stromberg BE, Nutting WB. Adaptive features of the exoskeleton and pigment deposits in Demodex spp.(Demodicidae). *Acarologia* 1973; **14**: 605–611.
- 65 Tsutsumi Y. Deposition of IgD, alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin on Demodex folliculorum and D. brevis infesting the pilosebaceous unit. *Pathol Int* 2004; **54**: 32–34.
- 66 Jimenez-Acosta F, Planas L, Penneys N. Demodex mites contain immunoreactive lipase. *Arch Dermatol* 1989; **125**: 1436–1437.
- 67 Clanner-Engelshofen BM, French LE, Reinholz M. Corynebacterium kroppenstedtii subsp. demodicis is the endobacterium of Demodex folliculorum. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2020; **34**: 1043–1049.
- 68 Aytekin S, Yaşar Ş, Göktay F, Güneş P. Spontaneous fluorescence of Demodex in the dark. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 359–360.
- 69 Lacey N, Russell-Hallinan A, Powell FC. Study of Demodex mites: Challenges and Solutions. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 764–775.
- 70 Gatault S, Foley R, Steinhoff M, Powell F. Autofluorescence of Demodex mites is related to motility. *J Investig Dermatol* 2016; **136**: S221: Abstract 352.

- 71 Foley R, Kelly P, Gatault S, Powell F. Demodex: a skin resident in man and his best friend. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2021; **35**: 62–72.
- 72 Tritten JJ. [Should one mention blepharitis due to Demodex folliculorum?]. *Rev Med Suisse Romande* 1990; **110**: 545–548.
- 73 Thyssen JP. Are demodex mites the best target for rosacea treatments? *Br J Dermatol* 2019; **181**: 652–653.
- 74 English FP, Nutting WB. Demodicosis of Ophthalmic Concern. *Am J Ophthalmol* 1981; **91**: 362–372.
- 75 Forton F. [Demodex and perifollicular inflammation in man: review and report of 69 biopsies]. *Ann Dermatol Venereol* 1986; **113**: 1047–1058.
- 76 Bardach HG, Raff M, Poitschek C. [Nosologic position of demodicidosis in humans]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb* 1981; **32**: 512–518.
- 77 Garven HSD. Demodex folliculorum in the human nipple. *The Lancet* 1946; **248**: 44–45.
- 78 Pena GP, Andrade Filho J de S. Is Demodex really non-pathogenic? *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2000; **42**: 171–173.
- 79 Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. [Demodex folliculorum and the histogenesis of granulomatous rosacea]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb* 1974; **25**: 166–177.
- 80 De Dulanto F, Camacho-Martinez F. [Demodicidosis gravis]. *Ann Dermatol Venereol* 1979; **106**: 699–704.
- 81 Lacey N, Ní Raghallaigh S, Powell FC. Demodex Mites – Commensals, Parasites or Mutualistic Organisms? *Dermatology* 2011; **222**: 128–130.
- 82 Wilson E. XI. Researches into the structure and development of a newly discovered parasitic animalcule of the human skin—the entozoon folliculorum. *Philos Trans R Soc Lond* 1844; : 305–319.
- 83 Hu L, Zhao Y-E, Cheng J, Ma J-X. Molecular identification of four phenotypes of human Demodex in China. *Exp Parasitol* 2014; **142**: 38–42.
- 84 Zhao Y, Ma J, Hu L, Wu L, De Rojas M. Discrimination between Demodex folliculorum (Acari: Demodicidae) isolates from China and Spain based on mitochondrial cox1 sequences. *J Zhejiang Univ Sci B* 2013; **14**: 829–836.
- 85 Lacey N, Russell-Hallinan A, Zouboulis CC, Powell FC. Demodex mites modulate sebocyte immune reaction: possible role in the pathogenesis of rosacea. *Br J Dermatol* 2018; **179**: 420–430.
- 86 Clanner-Engelshofen BM, Ruzicka T, Reinholz M. Efficient isolation and observation of the most complex human commensal, Demodex spp. *Exp Appl Acarol* 2018; **76**: 71–80.
- 87 Puozzo A. *Démodicéie chez le chien: étude rétrospective des cas observés à l'ENVT (janvier 2002-décembre 2009)*. 2012.
- 88 Gatault S, Foley R, Shiels L, Powell FC. Evaluation of Demodex mite viability using motility and scattered light intensity. *Exp Appl Acarol* 2019; **77**: 463–469.

- 89 Zhao YE, Guo N, Wu LP. The effect of temperature on the viability of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis*. *Parasitol Res* 2009; **105**: 1623–1628.
- 90 Shiels L, Foley R, Gatault S, Powell FC. Enhancing survival of *Demodex* mites in vitro. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2019; **33**: e57–e58.
- 91 Scott D, Miller W, Griffin C. Canine demodicosis. In: *Muller and Kirk's. Small Animal Dermatology*. WB Saunders Company: Philadelphia, 2000, pp 457–476.
- 92 Euzeby J. infections parasitaires des follicules pilo-sebaces en medecine veterinaire. *Rev Med Vet Toulouse* 1970; : 981–1011.
- 93 Ferrer L, Ravera I, Silbermayr K. Immunology and pathogenesis of canine demodicosis. *Vet Dermatol* 2014; **25**: 427–e65.
- 94 Ravera I, Altet L, Francino O, Sánchez A, Roldán W, Villanueva S *et al*. Small *Demodex* populations colonize most parts of the skin of healthy dogs: *Demodex canis* in skin of healthy dogs. *Vet Dermatol* 2013; **24**: 168–e37.
- 95 Guaguere E, Dorchies P, Franc M, Ducos de Lahitte J. Dog demodex infestation epidemiology. About 140 cases diagnosed in Toulouse area [France; injurious mites, *Demodex canis*]. *Rev Med Veterinaire* 1980; **131**: 631–638.
- 96 Greve JH, Gaafar SM. Natural transmission of *Demodex canis* in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1966; **148**: 1043–1045.
- 97 Scott DW, Schultz RD, Baker E. Further studies on the therapeutic and immunologic aspects of generalized demodectic [*Demodex canis*] mange in the dog [Mites]. *J Am Anim Hosp Assoc* 1976; **12**: 203–213.
- 98 Gortel K. Update on canine demodicosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; **36**: 229–241, ix.
- 99 Miller W. *Demodex* and its toll on animals. In: *Cutaneous infestations of man and animal*. Parish LC, Nutting WB, Scharzman RM, eds.: New York: Praeger, 1983, pp 218–25.
- 100 Mueller RS, Bensignor E, Ferrer L, Holm B, Lemarie S, Paradis M *et al*. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. *Vet Dermatol* 2012; **23**: 86–96, e20–21.
- 101 Muller GH, Kirk RW. *Small animal dermatology*. WB Saunders Company.: Philadelphia, London, Toronto, 1976.
- 102 Baker KP. The histopathology and pathogenesis of demodectosis of the dog. *J Comp Pathol* 1969; **79**: 321–327.
- 103 French FE. *Demodex canis* in canine tissues. *Cornell Vet* 1964; **54**: 270–290.
- 104 Koutz FR. *Demodex folliculorum* studies. III. A survey of clinical cases in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1954; **124**: 131–133.
- 105 Kumari P, Nigam R, Singh A, Nakade UP, Sharma A, Garg SK *et al*. *Demodex canis* regulates cholinergic system mediated immunosuppressive pathways in canine demodicosis. *Parasitology* 2017; **144**: 1412–1416.

- 106 Kumari P, Nigam R, Choudhury S, Singh SK, Yadav B, Kumar D *et al.* Demodex canis targets TLRs to evade host immunity and induce canine demodicosis. *Parasite Immunol* 2018; **40**. doi:10.1111/pim.12509.
- 107 Chen W, Plewig G. Are Demodex Mites Principal, Conspirator, Accomplice, Witness or Bystander in the Cause of Rosacea? *Am J Clin Dermatol* 2015; **16**: 67–72.
- 108 Hirst S. *Studies on Acari: British Museum Natural History*. Taylor & Francis: London, 1919.
- 109 Ayres S. Demodectic Eruptions (Demodicidosis) in the Human: 30 Years' Experience with 2 Commonly Unrecognized Entities: Pityriasis Folliculorum (Demodex) and Acne Rosacea (Demodex Type). *Arch Dermatol* 1961; **83**: 816.
- 110 Chen W, Plewig G. Human demodicosis: revisit and a proposed classification. *Br J Dermatol* 2014; **170**: 1219–1225.
- 111 Forton FM, Germaux M-AE, Thibaut SC, Stene J-JA, Brasseur TV, Mathys CL *et al.* Demodicosis: descriptive classification and status of Rosacea, in response to prior classification proposed. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**: 829–832.
- 112 Baima B, Sticherling M. Demodicidosis Revisited. *Acta Derm Venereol* 2002; **82**: 3–6.
- 113 Won JH, Ahn SK, Lee SH. Unusual manifestation of demodicidosis in a child. *Int J Dermatol* 1993; **32**: 822.
- 114 Patrizi A, Neri I, Chieragato C, Misciali M. Demodicidosis in immunocompetent young children: report of eight cases. *Dermatol Basel Switz* 1997; **195**: 239–242.
- 115 Pietrini P, Favennec L, Brasseur P. Demodex folliculorum in parakeratosis of the scalp in a child. *Parasite Paris Fr* 1995; **2**: 94.
- 116 Castanet J, Monpoux F, Mariani R, Ortonne JP, Lacour JPh. Demodicidosis in an Immunodeficient Child. *Pediatr Dermatol* 1997; **14**: 219–220.
- 117 Ivy SP, Mackall CL, Gore L, Gress RE, Hartley AH. Demodicidosis in childhood acute lymphoblastic leukemia; an opportunistic infection occurring with immunosuppression. *J Pediatr* 1995; **127**: 751–754.
- 118 Sanchez-Viera M, Hernanz JM, Sampelayo T, Gurbindo MD, Lecona M, Soto-Melo J. Granulomatous rosacea in a child infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 1010–1011.
- 119 Sahn EE, Sheridan DM. Demodicidosis in a child with leukemia. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 799–801.
- 120 Barrio J, Lecona M, Hernanz JM, Sánchez M, Gurbindo MD, Lázaro P *et al.* Rosacea-like demodicosis in an HIV-positive child. *Dermatol Basel Switz* 1996; **192**: 143–145.
- 121 Benessahraoui M, Paratte F, Plouvier E, Humbert P, Aubin F. Demodicidosis in a child with xantholeukaemia associated with type 1 neurofibromatosis. *Eur J Dermatol EJD* 2003; **13**: 311–312.
- 122 Morrás PG, Santos SP, Imedio IL, Echeverría ML, Hermosa JMH. Rosacea-like demodicidosis in an immunocompromised child. *Pediatr Dermatol* 2003; **20**: 28–30.

- 123 Herron MD, O'reilly MA, Vanderhooft SL. Refractory Demodex folliculitis in five children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Dermatol* 2005; **22**: 407–411.
- 124 Damian D, Rogers M. Demodex infestation in a child with leukaemia: treatment with ivermectin and permethrin. *Int J Dermatol* 2003; **42**: 724–726.
- 125 Bañuls J, Ramon D, Aniz E, Jorda E, Torres V. Papular pruritic eruption with human immunodeficiency virus infection. *Int J Dermatol* 1991; **30**: 801–803.
- 126 Forton F, Germaux M-A, Brasseur T, De Liever A, Laporte M, Mathys C *et al*. Demodicosis and rosacea: Epidemiology and significance in daily dermatologic practice. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52**: 74–87.
- 127 Hsu C-K, Hsu MM-L, Lee JY-Y. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**: 453–462.
- 128 Zhao Y, Hu L, Wu L, Ma J. A meta-analysis of association between acne vulgaris and Demodex infestation. *J Zhejiang Univ Sci B* 2012; **13**: 192–202.
- 129 Zhao Y, Peng Y, Wang X, Wu L, Wang M, Yan H *et al*. Facial dermatosis associated with Demodex: a case-control study. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; **12**: 1008–1015.
- 130 FariÑA, Requena, Sarasa, MartíN, Escalonilla, Soriano *et al*. Spinulosis of the face as a manifestation of demodicidosis. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 901–903.
- 131 Dominey A, Tschen J, Rosen T, Batres E, Stern JK. Pityriasis folliculorum revisited. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 81–84.
- 132 Yuan C, Wang X-M, Guichard A, Lihoreau T, Mac-Mary S, Khyat L *et al*. Comparison of reflectance confocal microscopy and standardized skin surface biopsy for three different lesions in a pityriasis folliculorum patient. *Br J Dermatol* 2015; **172**: 1440–1442.
- 133 Crosti C, Menni S, Sala F, Piccinno R. Demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. *J Cutan Pathol* 1983; **10**: 257–261.
- 134 Gündüz O, Aytekin A. Trichostasis spinulosa confirmed by standard skin surface biopsy. *Int J Trichology* 2012; **4**: 273–274.
- 135 Olsavszky V, Géraud C, Felcht M. Disseminated Small Papules on the Face: A Quiz. *Acta Derm Venereol* 2019; **99**: 625–626.
- 136 Karıncaoglu Y, Miman O, Kalayci B, Aycan OM, Atambay M. A demodicosis case which responded to systemic ivermectin. *Eur J Dermatol EJD* 2009; **19**: 189–190.
- 137 Bikowski JB, Del Rosso JQ. Demodex dermatitis: a retrospective analysis of clinical diagnosis and successful treatment with topical crotamiton. *J Clin Aesthetic Dermatol* 2009; **2**: 20–25.
- 138 Tatu AL, Clatici V, Cristea V. Isolation of *Bacillus simplex* strain from *Demodex folliculorum* and observations about Demodicosis spinulosa. *Clin Exp Dermatol* 2016; **41**: 818–820.
- 139 Ayres S, Mihan R. Rosacea-like demodicidosis involving the eyelids. A case report. *Arch Dermatol* 1967; **95**: 63–66.
- 140 Ayres S. Rosacea and Rosacea-like Demodicidosis. *Int J Dermatol* 1987; **26**: 198–199.

- 141 Shelley WB, Shelley ED, Burmeister V. Unilateral demodectic rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 915–917.
- 142 Pallotta S, Cianchini G, Martelloni E, Ferranti G, Girardelli CR, Di Lella G *et al.* Unilateral demodicidosis. *Eur J Dermatol EJD* 1998; **8**: 191–192.
- 143 Vashisht D, Singh J, Baveja S, Tiwari R, Bhatnagar A. Unilateral Demodicidosis of Face Mimicking Hansens Disease. *Dermatol Rep* 2016; **8**: 6891.
- 144 Kito Y, Hashizume H, Tokura Y. Rosacea-like Demodicosis Mimicking Cutaneous Lymphoma. *Acta Derm Venereol* 2012; **92**: 169–170.
- 145 Jansen T, Kastner U, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea-like demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Br J Dermatol* 2001; **144**: 139–142.
- 146 Eismann R, Bramsiepe I, Danz B, Wohlrab J, Marsch WC, Fiedler E. Abscessing nodular demodicosis--therapy with ivermectin and permethrin. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2010; **24**: 79–81.
- 147 Akilov OE, Butov YS, Mumcuoglu KY. A clinico-pathological approach to the classification of human demodicosis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005; **3**: 607–614.
- 148 Aydogan K, Alver O, Tore O, Karadogan S. Facial abscess-like conglomerates associated with Demodex mites. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; **20**: 1002–1004.
- 149 de Jaureguiberry JP, Carsuzaa F, Pierre C, Arnoux D, Jaubert D. [Demodex folliculitis: a cause of pruritus in human immunodeficiency virus infection]. *Ann Med Interne (Paris)* 1993; **144**: 63–64.
- 150 Dominey A, Rosen T, Tschen J. Papulonodular demodicidosis associated with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **20**: 197–201.
- 151 Forstinger C, Kittler H, Binder M. Treatment of rosacea-like demodicidosis with oral ivermectin and topical permethrin cream. *J Am Acad Dermatol* 1999; **41**: 775–777.
- 152 Gallo RL, Granstein RD, Kang S, Mannis M, Steinhoff M, Tan J *et al.* Standard classification and pathophysiology of rosacea: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**: 148–155.
- 153 Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD. Demodicidosis or rosacea: what did we treat? *Br J Dermatol* 1995; **133**: 294–299.
- 154 Elston DM. Demodex mites as a cause of human disease. *Cutis* 2005; **76**: 294–296.
- 155 Nunzi E, Rebora A, Hamerlinck F, Cormane RH. Immunopathological studies on rosacea. *Br J Dermatol* 1980; **103**: 543–552.
- 156 Ayres S, Mihan R. Demodex granuloma. *Arch Dermatol* 1979; **115**: 1285–1286.
- 157 Ecker RI, Winkelmann RK. Demodex granuloma. *Arch Dermatol* 1979; **115**: 343–344.
- 158 Camacho-Martinez F, Winkelmann RK. Solid facial edema as a manifestation of acne. *J Am Acad Dermatol* 1990; **22**: 129–130.

- 159 García-Vargas A, Mayorga-Rodríguez JA, Sandoval-Tress C. Scalp demodicidosis mimicking favus in a 6-year-old boy. *J Am Acad Dermatol* 2007; **57**: S19-21.
- 160 Großmann B, Jung K, Linse R. Tubero-pustular demodicosis. *Hautarzt* 1999; **50**: 491.
- 161 Forton FMN, De Maertelaer V. Papulopustular rosacea and rosacea-like demodicosis: two phenotypes of the same disease? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; **32**: 1011–1016.
- 162 Smith S, McCulloch C. Demodex folliculorum palpebrarum. *Can J Ophthalmol J Can Ophthalmol* 1969; **4**: 3–15.
- 163 Gao Y-Y, Di Pascuale MA, Li W, Liu DT-S, Baradaran-Rafii A, Elizondo A *et al.* High prevalence of Demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; **46**: 3089–3094.
- 164 Liu J, Sheha H, Tseng SCG. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; **10**: 505–510.
- 165 Kim JH, Chun YS, Kim JC. Clinical and immunological responses in ocular demodicosis. *J Korean Med Sci* 2011; **26**: 1231–1237.
- 166 Kheirkhah A, Blanco G, Casas V, Tseng SCG. Fluorescein dye improves microscopic evaluation and counting of demodex in blepharitis with cylindrical dandruff. *Cornea* 2007; **26**: 697–700.
- 167 Morgan RJ, Coston TO. Demodex Blepharitis: *South Med J* 1964; **57**: 694–699.
- 168 Uyttebroeck W, Nijs I, Maudgal PC, Missotten L. Incidence of Demodex folliculorum on the eyelash follicle in normal people and in blepharitis patients. *Bull Soc Belge Ophthalmol* 1982; **201**: 83–87.
- 169 Rodríguez AE, Ferrer C, Alió JL. [Chronic blepharitis and Demodex]. *Arch Soc Espanola Oftalmol* 2005; **80**: 635–642.
- 170 Muntz A, Purslow C, Wolffsohn JS, Craig JP. Improved Demodex diagnosis in the clinical setting using a novel in situ technique. *Contact Lens Anterior Eye* 2019; : S1367048419301833.
- 171 Szkaradkiewicz A, Chudzicka-Strugała I, Karpiński TM, Goslińska-Pawłowska O, Tułeczka T, Chudzicki W *et al.* Bacillus oleronius and Demodex mite infestation in patients with chronic blepharitis. *Clin Microbiol Infect* 2012; **18**: 1020–1025.
- 172 Randon M, Liang H, El Hamdaoui M, Tahiri R, Batellier L, Denoyer A *et al.* In vivo confocal microscopy as a novel and reliable tool for the diagnosis of Demodex eyelid infestation. *Br J Ophthalmol* 2015; **99**: 336–341.
- 173 Nicholls SG, Oakley CL, Tan A, Vote BJ. Demodex species in human ocular disease: new clinicopathological aspects. *Int Ophthalmol* 2017; **37**: 303–312.
- 174 Evren Kemer Ö, Karaca EE, Özek D. Efficacy of cyclic therapy with terpinen-4-ol in Demodex blepharitis: Is treatment possible by considering Demodex's life cycle? *Eur J Ophthalmol* 2020; : 1120672120919085.
- 175 Mastrota KM. Method to identify Demodex in the eyelash follicle without epilation. *Optom Vis Sci Off Publ Am Acad Optom* 2013; **90**: e172-174.

- 176 Fulk GW, Murphy B, Robins MD. Pilocarpine gel for the treatment of demodicosis--a case series. *Optom Vis Sci Off Publ Am Acad Optom* 1996; **73**: 742–745.
- 177 English FP. Demodex folliculorum and oedema of the eyelash. *Br J Ophthalmol* 1971; **55**: 742–746.
- 178 Millikan LE. Androgenetic alopecia: the role of inflammation and Demodex. *Int J Dermatol* 2001; **40**: 475–476.
- 179 Mahé YF. Inflammatory perifollicular fibrosis and alopecia. *Int J Dermatol* 1998; **37**: 416–417.
- 180 Zhao Y-E, Wu L-P, Hu L, Xu J-R. Association of Blepharitis with *Demodex* : A Meta-analysis. *Ophthalmic Epidemiol* 2012; **19**: 95–102.
- 181 Inceboz T, Yaman A, Over L, Ozturk AT, Akisu C. Diagnosis and treatment of demodectic blepharitis. *Turk Parazitolojii Derg* 2009; **33**: 32–36.
- 182 Czepita D, Kuźna-Grygiel W, Kosik-Bogacka D. Investigations on the occurrence as well as the role of Demodex folliculorum and Demodex brevis in the pathogenesis of blepharitis. *Klin Oczna* 2005; **107**: 80–82.
- 183 Kim JT, Lee SH, Chun YS, Kim JC. Tear cytokines and chemokines in patients with Demodex blepharitis. *Cytokine* 2011; **53**: 94–99.
- 184 Post CF, Juhlin E. Demodex Folliculorum and Blepharitis. *Arch Dermatol* 1963; **88**: 298–302.
- 185 Yam JCS, Tang BSF, Chan T-M, Cheng ACK. Ocular demodicidosis as a risk factor of adult recurrent chalazion. *Eur J Ophthalmol* 2014; **24**: 159–163.
- 186 Liang L, Ding X, Tseng SCG. High Prevalence of Demodex brevis Infestation in Chalazia. *Am J Ophthalmol* 2014; **157**: 342-348.e1.
- 187 Cheng AMS, Sheha H, Tseng SCG. Recent advances on ocular Demodex infestation: *Curr Opin Ophthalmol* 2015; **26**: 295–300.
- 188 Purcell SM, Hayes TJ, Dixon SL. Pustular folliculitis associated with Demodex folliculorum. *J Am Acad Dermatol* 1986; **15**: 1159–1162.
- 189 Sanfilippo AM, English JC. Resistant scalp folliculitis secondary to Demodex infestation. *Cutis* 2005; **76**: 321–324.
- 190 Helou W, Avitan-Hersh E, Bergman R. Demodex Folliculitis of the Scalp: Clinicopathological Study of an Uncommon Entity. *Am J Dermatopathol* 2016; **38**: 658–663.
- 191 Fernandez-Flores A, Alija A. Scalp folliculitis with Demodex: innocent observer or pathogen? *Braz J Infect Dis* 2009; **13**. doi:10.1590/S1413-86702009000200001.
- 192 Miskjian HG. Demodicidosis (Demodex infestation of the scalp). *AMA Arch Dermatol Syphilol* 1951; **63**: 282–283.
- 193 Ashack RJ, Frost ML, Norins AL. Papular pruritic eruption of Demodex folliculitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; **21**: 306–307.

- 194 Nakagawa T, Sasaki M, Fujita K, Nishimoto M, Takaiwa T. Demodex folliculitis on the trunk of a patient with mycosis fungoides. *Clin Exp Dermatol* 1996; **21**: 148–150.
- 195 Redondo Mateo J, Soto Guzmán O, Fernández Rubio E, Domínguez Franjo F. Demodex-attributed rosacea-like lesions in AIDS. *Acta Derm Venereol* 1993; **73**: 437.
- 196 Schaller M, Sander CA, Plewig G. Demodex abscesses: clinical and therapeutic challenges. *J Am Acad Dermatol* 2003; **49**: 272–274.
- 197 Seifert HW. [Demodex folliculorum causing solitary tuberculoid granuloma]. *Z Hautkr* 1978; **53**: 540–542.
- 198 Bardach HG, Raff M, Poitschek C. Nosologische Stellung der Demodicidosis beim Menschen. *Hautarzt Dtsch Dermatol Ges* 1981.
- 199 Vollmer RT. Demodex-Associated Folliculitis: *Am J Dermatopathol* 1996; **18**: 589–591.
- 200 Forton F. Demodex-associated Folliculitis: *Am J Dermatopathol* 1998; **20**: 536–537.
- 201 Lindmaier A, Jurecka W, Lindemayr H. Demodicidosis mimicking granulomatous rosacea and transient acantholytic dermatosis (Grover's disease). *Dermatologica* 1987; **175**: 200–204.
- 202 Gazi U, Gureser AS, Oztekin A, Karasartova D, Kosar-Acar N, Derici MK *et al*. Skin-homing T-cell responses associated with Demodex infestation and rosacea. *Parasite Immunol* 2019; **41**: e12658.
- 203 Marks R, Harcourt-Webster JN. Histopathology of rosacea. *Arch Dermatol* 1969; **100**: 683–691.
- 204 Kanitakis J, Al-Rifai I, Faure M, Claudy A. Demodex mites of human skin express Tn but not T (Thomsen-Friedenreich) antigen immunoreactivity. *J Cutan Pathol* 1997; **24**: 454–455.
- 205 Forton FMN. Papulopustular rosacea, skin immunity and Demodex: pityriasis folliculorum as a missing link. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2012; **26**: 19–28.
- 206 Basta-Juzbasić A, Marinović T, Dobrić I, Bolanca-Bumber S, Sencar J. The possible role of skin surface lipid in rosacea with epitheloid granulomas. *Acta Medica Croat Cas Hrvatske Akad Med Znan* 1992; **46**: 119–123.
- 207 Harmelin Y, Delaunay P, Erfan N, Tsilika K, Zorzi K, Passeron T *et al*. Interest of confocal laser scanning microscopy for the diagnosis and treatment monitoring of demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; **28**: 255–257.
- 208 Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. Demodex folliculorum ed acne rosacea. *G Ital Dermatol Venereol* 1981; : 489–491.
- 209 Lefler E, Aizic B, Merzbach D, Joachims HZ. Occurrence of Demodex in nose follicles of outpatients attending an otorhinolaryngology clinic. *Cutis* 1989; **44**: 461–462.
- 210 Horváth A, Neubrandt DM, Ghidán Á, Nagy K. Risk factors and prevalence of Demodex mites in young adults. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2011; **58**: 145–155.
- 211 Tehrani S, Tizmaghz A, Shabestanipour G. The Demodex mites and their relation with seborrheic and atopic Dermatitis. *Asian Pac J Trop Med* 2014; **7**: S82–S84.

- 212 Forton FMN, De Maertelaer V. Two Consecutive Standardized Skin Surface Biopsies: An Improved Sampling Method to Evaluate Demodex Density as a Diagnostic Tool for Rosacea and Demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**: 242–248.
- 213 Casas C, Paul C, Lahfa M, Livideanu B, Lejeune O, Alvarez-Georges S *et al.* Quantification of *Demodex folliculorum* by PCR in rosacea and its relationship to skin innate immune activation. *Exp Dermatol* 2012; **21**: 906–910.
- 214 Logger JGM, Vries FMC, Erp PEJ, Jong EMGJ, Peppelman M, Driessen RJB. Noninvasive objective skin measurement methods for rosacea assessment: a systematic review. *Br J Dermatol* 2019; : bjd.18151.
- 215 Friedman P, Sabban EC, Cabo H. Usefulness of dermoscopy in the diagnosis and monitoring treatment of demodicidosis. *Dermatol Pract Concept* 2017; **7**: 35–38.
- 216 Kelati A, Mernissi FZ. Granulomatous rosacea: a case report. *J Med Case Reports* 2017; **11**: 230.
- 217 Tatu A, Ionescu M, Cristea V. Demodex folliculorum associated Bacillus pumilus in lesional areas in rosacea. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2017; **83**: 610.
- 218 Beerman H, Stokes JH. Rosacea complex and Demodex folliculorum. *Arch Dermatol Syphilol* 1934; **29**: 874–884.
- 219 Ramelet A-A, Perroulaz G. Rosacée: étude histopathologique de 75 cas. In: *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. 1988, pp 801–806.
- 220 Bonamigo R, Bakos L, Edelweiss M, Cartell A. Could matrix metalloproteinase-9 be a link between Demodex folliculorum and rosacea? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; **19**: 646–647.
- 221 Zeytun E, Tilki E, Doğan S, Mumcuoğlu KY. The effect of skin moisture, pH, and temperature on the density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in students and staff of the Erzincan University, Turkey. *Int J Dermatol* 2017; **56**: 762–766.
- 222 Zeytun E. Demodex (Acari: Demodicidae) infestation in the elderly and its relationship with the skin parameters such as moisture, pH, and temperature: a cross-sectional study. *Turk Geriatri Derg* 2017; **20**: 142–150.
- 223 Erbagci Z, Özgöztaşı O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; **37**: 421–425.
- 224 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 443–448.
- 225 Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC, Patsouris E, Agapitos E. Rosacea: A Clinicopathological Approach. *Dermatology* 2004; **209**: 177–182.
- 226 Cribier B. Rosacea under the microscope: characteristic histological findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013; **27**: 1336–1343.
- 227 Perrigouard C, Peltre B, Cribier B. [A histological and immunohistological study of vascular and inflammatory changes in rosacea]. *Ann Dermatol Venereol* 2013; **140**: 21–29.

- 228 Cribier B. Pathophysiology of rosacea: redness, telangiectasia, and rosacea. *Ann Dermatol Vénéréologie* 2011; **138**: S184–S191.
- 229 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, Falay T, Inan Yuksel E, Sarikaya E. Demodex mites in acne rosacea: reflectance confocal microscopic study. *Australas J Dermatol* 2017; **58**: e26–e30.
- 230 Katz AM. Rosacea: epidemiology and pathogenesis. *J Cutan Med Surg* 1998; **2 Suppl 4**: S4–S10.
- 231 Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *J Am Acad Dermatol* 2015; **72**: 749–758.
- 232 Roihu T, Kariniemi A-L. Demodex mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol* 1998; **25**: 550–552.
- 233 Sędzikowska A, Osęka M, Skopiński P. The impact of age, sex, blepharitis, rosacea and rheumatoid arthritis on Demodex mite infection. *Arch Med Sci* 2018; **14**: 353–356.
- 234 Dolenc-Voljc M, Pohar M, Lunder T. Density of Demodex folliculorum in perioral dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2005; **85**: 211–215.
- 235 Cevik C, Kaya OA, Akbay E, Yula E, Yengil E, Gulmez MI *et al*. Investigation of demodex species frequency in patients with a persistent itchy ear canal treated with a local steroid. *J Laryngol Otol* 2014; **128**: 698–701.
- 236 Bøge-Rasmussen T, Christensen JD, Gluud B, Kristensen G, Norn MS. Demodex folliculorum hominis (Simon): incidence in a normomaterial and in patients under systemic treatment with erythromycin or glucocorticoid. *Acta Derm Venereol* 1982; **62**: 454–456.
- 237 Srivastava M, Balasubramanian P, Anil A. A study of topical steroid induced facial dermatosis in Andaman and Nicobar Islands and to analyse the role of Demodex mite in its pathogenicity. *Int J Res Dermatol* 2019; **5(1)**: xxx–xxx.
- 238 Marks R, Black MM. Perioral dermatitis. A histopathologic study of 26 cases. *Br J Dermatol* 1971; **84**: 242–247.
- 239 Ramelet AA, Delacrétaz J. [Histopathologic study of perioral dermatitis]. *Dermatologica* 1981; **163**: 361–369.
- 240 Falay Gur T, Erdemir AV, Gurel MS, Kocyigit A, Guler EM, Erdil D. The investigation of the relationships of demodex density with inflammatory response and oxidative stress in rosacea. *Arch Dermatol Res* 2018; **310**: 759–767.
- 241 Aydingöz IE, Dervent B, Guney O. Demodex folliculorum in pregnancy. *Int J Dermatol* 2000; **39**: 743–745.
- 242 Aydingöz IE, Mansur T, Dervent B. *Demodex folliculorum* in Renal Transplant Patients. *Dermatology* 1997; **195**: 232–234.
- 243 Aydingöz İE, Dervent B. *Demodex folliculorum* in Renal Transplant Patients Revisited. *Dermatology* 2001; **203**: 272–273.
- 244 Demirdağ HG, Özcan H, Gürsoy Ş, Beker Akbulut G. The effects of sebum configuration on Demodex spp. density. *Turk J Med Sci* 2016; **46**: 1415–1421.

- 245 Jarmuda S, McMahon F, Žaba R, O'Reilly N, Jakubowicz O, Holland A *et al.* Correlation between serum reactivity to Demodex-associated Bacillus oleronius proteins, and altered sebum levels and Demodex populations in erythematotelangiectatic rosacea patients. *J Med Microbiol* 2014; **63**: 258–262.
- 246 Ní Raghallaigh S, Bender K, Lacey N, Brennan L, Powell FC. The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea. *Br J Dermatol* 2012; **166**: 279–287.
- 247 Aquilina C, Viraben R, Sire S. Ivermectin-Responsive *Demodex* Infestation during Human Immunodeficiency Virus Infection. *Dermatology* 2002; **205**: 394–397.
- 248 Patrizi A, Trestini D, D'Antuono A, Colangeli V. Demodicidosis in a child infected with acquired immunodeficiency virus. *Eur J Pediatr Dermatol* 1999; **9**: 25–8.
- 249 Duvic M. Staphylococcal infections and the pruritus of AIDS-related complex. *Arch Dermatol* 1987; **123**: 1599.
- 250 Girault C, Borsa-Lebas F, Lecomte F, Humbert G. [Papulonodular eruption. Demodicidosis in acquired immunodeficiency syndrome]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983 1991; **20**: 177.
- 251 Sarro RA, Hong JJ, Elgart ML. An unusual demodicidosis manifestation in a patient with AIDS. *J Am Acad Dermatol* 1998; **38**: 120–121.
- 252 Seyhan M, Karıncaoglu Y, Bayram N, Aycan O, Kuku I. Density of *Demodex Folliculorum* in Haematological Malignancies. *J Int Med Res* 2004; **32**: 411–415.
- 253 Antille C, Saurat J-H, Lübke J. Induction of Rosaceiform Dermatitis During Treatment of Facial Inflammatory Dermatoses With Tacrolimus Ointment. *Arch Dermatol* 2004; **140**: 457- elucidating60.
- 254 Lübke J, Stucky L, Saurat J-H. Rosaceiform Dermatitis with Follicular *Demodex* after Treatment of Facial Atopic Dermatitis with 1% Pimecrolimus Cream. *Dermatology* 2003; **207**: 205–207.
- 255 Clifford CW, Fulk GW. Association of Diabetes, Lash Loss, and Staphylococcus aureus with Infestation of Eyelids by Demodex folliculorum (Acari: Demodicidae). *J Med Entomol* 1990; **27**: 467–470.
- 256 Akdeniz S, Bahceci M, Tuzcu A, Harman M, Alp S, Bahceci S. Is demodex folliculorum larger in diabetic patients? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; **16**: 539–541.
- 257 Gökçe C, Aycan-Kaya Ö, Yula E, Üstün I, Yengil E, Sefil F *et al.* The effect of blood glucose regulation on the presence of opportunistic Demodex folliculorum mites in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res* 2013; **41**: 1752–1758.
- 258 Keskin Kurt R, Aycan Kaya O, Karateke A, Silfeler DB, Soylu Karapınar O, Akkoca AN *et al.* Increased Density of *Demodex folliculorum* Mites in Pregnancies with Gestational Diabetes. *Med Princ Pract* 2014; **23**: 369–372.
- 259 Karıncaoglu Y, Esrefoglu Seyhan M, Bayram N, Aycan O, Taskapan H. Incidence of Demodex Folliculorum in Patients with End Stage Chronic Renal Failure. *Ren Fail* 2005; **27**: 495–499.
- 260 Kaya OA, Akkucuk S, İlhan G, Guneri CO, Mumcuoglu K. The Importance of Demodex Mites (Acari: Demodicidae) in Patients With Sickle Cell Anemia. *J Med Entomol* 2019; **56**: 599–602.

- 261 Kaya S, Selimoglu MA, Kaya OA, Ozgen U. Prevalence of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in childhood malnutrition and malignancy: *Demodex* in malnutrition and malignancy. *Pediatr Int* 2013; **55**: 85–89.
- 262 Gerber PA, Kukova G, Buhren BA, Homey B. Density of *Demodex folliculorum* in Patients Receiving Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors. *Dermatology* 2011; **222**: 144–147.
- 263 Akilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicosis and HLA class I. *Clin Exp Dermatol* 2003; **28**: 70–73.
- 264 Akilov O, Mumcuoglu K. Immune response in demodicosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; **18**: 440–444.
- 265 Molho-Pessach V, Meltser A, Kamshov A, Ramot Y, Zlotogorski A. *STAT1* gain-of-function and chronic demodicosis. *Pediatr Dermatol* 2020; **37**: 153–155.
- 266 Baghdad B, El Fatoiki FZ, Benhsaien I, Bousfiha AA, Puel A, Migaud M *et al*. Pediatric Demodicosis Associated with Gain-of-Function Variant in *STAT1* Presenting as Rosacea-Type Rash. *J Clin Immunol* 2021. doi:10.1007/s10875-020-00942-z.
- 267 Ovadia A, Sharfe N, Hawkins C, Laughlin S, Roifman CM. Two different *STAT1* gain-of-function mutations lead to diverse IFN- γ -mediated gene expression. *Npj Genomic Med* 2018; **3**: 1–5.
- 268 Forton F, Seys B, Marchal J-L, Song M. *Demodex folliculorum* and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 461–466.
- 269 Kosik-Bogacka DI, Łanocha N, Łanocha A, Czepita D, Grobelny A, Zdziarska B *et al*. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* in healthy and immunocompromised patients. *Ophthalmic Epidemiol* 2013; **20**: 159–163.
- 270 Borrel A. Demodex et infections cutanees. *Comp Rend Soc BiolParis* 1908; **65**: 596.
- 271 Erbagci Z, Erbagci I, Erkilic S. High incidence of demodicidosis in eyelid basal cell carcinomas. *Int J Dermatol* 2003; **42**: 567–571.
- 272 English FP, Iwamoto T, Darrell RW, DeVoe AG. The Vector Potential of *Demodex folliculorum*. *Arch Ophthalmol* 1970; **84**: 83–85.
- 273 Whitfeld M, Gunasingam N, Leow LJ, Shirato K, Preda V. *Staphylococcus epidermidis*: A possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2011; **64**: 49–52.
- 274 Woo YR, Lee SH, Cho SH, Lee JD, Kim HS. Characterization and Analysis of the Skin Microbiota in Rosacea: Impact of Systemic Antibiotics. *J Clin Med* 2020; **9**: 185.
- 275 Murillo N, Aubert J, Raoult D. Microbiota of *Demodex* mites from rosacea patients and controls. *Microb Pathog* 2014; **71–72**: 37–40.
- 276 Lacey N, Delaney S, Kavanagh K, Powell FC. Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br J Dermatol* 2007; **157**: 474–481.
- 277 Tatu AL, Ionescu MA, Clatici VG, Cristea VC. *Bacillus cereus* strain isolated from *Demodex folliculorum* in patients with topical steroid-induced rosaceiform facial dermatitis. *An Bras Dermatol* 2016; **91**: 676–678.

- 278 Junk AK, Lukacs A, Kampik A. [Topical administration of metronidazole gel as an effective therapy alternative in chronic Demodex blepharitis--a case report]. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998; **213**: 48–50.
- 279 Celorio J, Fariza-Guttmann E, Morales V. Pilocarpine as a coadjuvant treatment of blepharoconjunctivitis caused by Demodex folliculorum. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; **30 (suppl)**: 40.
- 280 Rufli T, Mumcuoglu Y, Cajacob A, Büchner S. [Demodex folliculorum: aetiopathogenesis and therapy of rosacea and perioral dermatitis (author's transl)]. *Dermatologica* 1981; **162**: 12–26.
- 281 Morsy TA, Morsy GH, Sanad EM. Eucalyptus globulus (camphor oil) in the treatment of human demodicidosis. *J Egypt Soc Parasitol* 2002; **32**: 797–803.
- 282 Brown M, Hernández-Martín A, Clement A, Colmenero I, Torrelo A. Severe *Demodex folliculorum* –Associated Oculocutaneous Rosacea in a Girl Successfully Treated With Ivermectin. *JAMA Dermatol* 2014; **150**: 61.
- 283 Raoufinejad K, Mansouri P, Rajabi M, Naraghi Z, Jebraeili R. Efficacy and safety of permethrin 5% topical gel vs. placebo for rosacea: a double-blind randomized controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 2105–2117.
- 284 Koçak M, Yağlı S, Vahapoğlu G, Ekşioğlu M. Permethrin 5% cream versus metronidazole 0.75% gel for the treatment of papulopustular rosacea. A randomized double-blind placebo-controlled study. *Dermatol Basel Switz* 2002; **205**: 265–270.
- 285 Salem DA-B, El-Shazly A, Nabih N, El-Bayoumy Y, Saleh S. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of Demodex folliculorum. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis* 2013; **17**: e343-347.
- 286 Luo Y, Sun Y-J, Zhang L, Luan X-L. Treatment of mites folliculitis with an ornidazole-based sequential therapy: A randomized trial. *Medicine (Baltimore)* 2016; **95**: e4173.
- 287 Persi A, Rebora A. Metronidazole and Demodex folliculorum. *Acta Derm Venereol* 1981; **61**: 182–183.
- 288 Persi A, Rebora A. Metronidazole in the treatment of rosacea. *Arch Dermatol* 1985; **121**: 307–308.
- 289 Jacob S, VanDaele MA, Brown JN. Treatment of Demodex-associated inflammatory skin conditions: A systematic review. *Dermatol Ther* 2019; **32**: e13103.
- 290 Schaller M, Gonser L, Belge K, Braunsdorf C, Nordin R, Scheu A *et al*. Dual anti-inflammatory and anti-parasitic action of topical ivermectin 1% in papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**: 1907–1911.
- 291 Logger JGM, Peppelman M, van Erp PEJ, de Jong EMGJ, Nguyen KP, Driessen RJB. Value of reflectance confocal microscopy for the monitoring of rosacea during treatment with topical ivermectin. *J Dermatol Treat* 2020; : 1–9.
- 292 Trave I, Merlo G, Cozzani E, Parodi A. Real-life experience on effectiveness and tolerability of topical ivermectin in papulopustular rosacea and antiparasitic effect on Demodex mites. *Dermatol Ther* 2019; **32**: e13093.

- 293 Darji K, Burkemper NM. Pityriasis Folliculorum: Response to Topical Ivermectin. *J Drugs Dermatol JDD* 2017; **16**: 1290–1292.
- 294 Holzchuh FG, Hida RY, Moscovici BK, Villa Albers MB, Santo RM, Kara-José N *et al.* Clinical Treatment of Ocular Demodex folliculorum by Systemic Ivermectin. *Am J Ophthalmol* 2011; **151**: 1030-1034.e1.
- 295 Filho PAN, Hazarbassanov RM, Grisolia ABD, Pazos HB, Kaiserman I, Gomes JAP. The efficacy of oral ivermectin for the treatment of chronic blepharitis in patients tested positive for Demodex spp. *Br J Ophthalmol* 2011; **95**: 893–895.
- 296 Gao Y-Y, Di Pascuale MA, Li W, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, Kuo C-L *et al.* In vitro and in vivo killing of ocular Demodex by tea tree oil. *Br J Ophthalmol* 2005; **89**: 1468–1473.
- 297 Tighe S, Gao Y-Y, Tseng SCG. Terpinen-4-ol is the Most Active Ingredient of Tea Tree Oil to Kill Demodex Mites. *Transl Vis Sci Technol* 2013; **2**: 2.
- 298 Kabat AG. In vitro demodicidal activity of commercial lid hygiene products. *Clin Ophthalmol* 2019; **Volume 13**: 1493–1497.
- 299 Gao Y-Y, Di Pascuale MA, Elizondo A, Tseng SCG. Clinical Treatment of Ocular Demodocosis by Lid Scrub With Tea Tree Oil: *Cornea* 2007; **26**: 136–143.
- 300 Lam NSK, Long XX, Griffin RC, Chen M-K, Doery JC. Can the tea tree oil (Australian native plant: Melaleuca alternifolia Cheel) be an alternative treatment for human demodicosis on skin? *Parasitology* 2018; **145**: 1510–1520.
- 301 Thomas J, Carson CF, Peterson GM, Walton SF, Hammer KA, Naunton M *et al.* Therapeutic Potential of Tea Tree Oil for Scabies. *Am J Trop Med Hyg* 2016; **94**: 258–266.
- 302 Cross SE, Russell M, Southwell I, Roberts MS. Human skin penetration of the major components of Australian tea tree oil applied in its pure form and as a 20% solution in vitro. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV* 2008; **69**: 214–222.
- 303 Lam NSK, Long XX, Li X, Yang L, Griffin RC, Doery JC. Comparison of the efficacy of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil with other current pharmacological management in human demodicosis: A Systematic Review. *Parasitology* 2020; : 1–27.
- 304 Amichai B, Grunwald MH, Avinoach I, Halevy S. Granulomatous rosacea associated with Demodex folliculorum. *Int J Dermatol* 1992; **31**: 718–719.
- 305 Erzurum SA. Acne Rosacea With Keratitis in Childhood. *Arch Ophthalmol* 1993; **111**: 228.
- 306 Bourrat E, Rybojad M, Deplus S, Morel P. [Rosacea with ocular involvement in a child]. *Ann Dermatol Venereol* 1996; **123**: 664–665.
- 307 Tan J, Schöfer H, Araviiskaia E, Audibert F, Kerrouche N, Berg M *et al.* Prevalence of rosacea in the general population of Germany and Russia - The RISE study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 428–434.
- 308 van Zuuren EJ. Rosacea. *N Engl J Med* 2017; **377**: 1754–1764.
- 309 Powell FC. Rosacea. *Rooks Textb Dermatol Ninth Ed* 2016; : 1–20.

- 310 Gajewska M. Rosacea of common male baldness. *Br J Dermatol* 1975; **93**: 63–66.
- 311 Miguel-Gomez L, Fonda-Pascual P, Vano-Galvan S, Carrillo-Gijon R, Muñoz-Zato E. Extrafacial rosacea with predominant scalp involvement. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2015; **81**: 511.
- 312 Oberholzer PA, Nobbe S, Kolm I, Kerl K, Kamarachev J, Trüeb RM. Red Scalp Disease - A Rosacea-Like Dermatitis of the Scalp? Successful Therapy with Oral Tetracycline. *Dermatology* 2009; **219**: 179–181.
- 313 Hoting E, Paul E, Plewig G. Treatment of Rosacea with Isotretinoin. *Int J Dermatol* 1986; **25**: 660–663.
- 314 Cribier B. Rosacée : nouveautés pour une meilleure prise en charge. *Ann Dermatol Vénéréologie* 2017; **144**: 508–517.
- 315 Berg M, Lidén S. An epidemiological study of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1989; **69**: 419–423.
- 316 Gether L, Overgaard LK, Egeberg A, Thyssen JP. Incidence and prevalence of rosacea: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol* 2018; **179**: 282–289.
- 317 Feldman SR, Hollar CB, Gupta AK, Fleischer AB. Women commonly seek care for rosacea: dermatologists frequently provide the care. *Cutis* 2001; **68**: 156–160.
- 318 Buddenkotte J, Steinhoff M. Recent advances in understanding and managing rosacea. *F1000Research* 2018; **7**. doi:10.12688/f1000research.16537.1.
- 319 Saleem MD. Revisiting Rosacea Criteria. *Dermatol Clin* 2018; **36**: 161–165.
- 320 Powell F. *Rosacea: diagnosis and management*. Informa Healthcare USA Inc: New York, NY, 2008.
- 321 Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R *et al*. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002; **46**: 584–587.
- 322 Helm KF, Menz J, Gibson LE, Dicken CH. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1991; **25**: 1038–1043.
- 323 van de Scheur MR, van der Waal RIF, Starink TM. Lupus miliaris disseminatus faciei: A Distinctive Rosacea-Like Syndrome and Not a Granulomatous Form of Rosacea. *Dermatology* 2003; **206**: 120–123.
- 324 Simonart T, Lowy M, Rasquin F, Laporte M, De Dobbeleer G, Simonis A *et al*. Overlap of Sarcoidosis and Rosacea. *Dermatology* 1997; **194**: 416–418.
- 325 Chougule A, Chatterjee D, Yadav R, Sethi S, De D, Saikia UN. Granulomatous Rosacea Versus Lupus Miliaris Disseminatus Faciei—2 Faces of Facial Granulomatous Disorder: A Clinicohistological and Molecular Study. *Am J Dermatopathol* 2018; **40**: 819–823.
- 326 Luo Y, Wu L-X, Zhang J-H, Zhou N, Luan X-L. Demodex-induced Lupus miliaris disseminatus faciei: A case report. *Medicine (Baltimore)* 2020; **99**: e21112.

- 327 Akpek EK, Merchant A, Pinar V, Foster CS. Ocular rosacea: patient characteristics and follow-up. *Ophthalmology* 1997; **104**: 1863–1867.
- 328 Gudmundsen KJ, O'Donnell BF, Powell FC. Schirmer testing for dry eyes in patients with rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1992; **26**: 211–214.
- 329 Quarterman MJ, Johnson DW, Abele DC, Leshner JL, Hull DS, Davis LS. Ocular rosacea. Signs, symptoms, and tear studies before and after treatment with doxycycline. *Arch Dermatol* 1997; **133**: 49–54.
- 330 Lazaridou E, Fotiadou C, Ziakas NG, Giannopoulou C, Apalla Z, Ioannides D. Clinical and laboratory study of ocular rosacea in northern Greece: Study of ocular rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; **25**: 1428–1431.
- 331 Koçak-altintas AG, Kocak-midillioğlu I, Gül U, Bilezikci B, Isiksaçan O, Duman S. Impression Cytology and Ocular Characteristics in Ocular Rosacea. *Eur J Ophthalmol* 2003; **13**: 351–359.
- 332 Zengin N, Tol H, Gündüz K, Okudan S, Balevi S, Endoğru H. Meibomian gland dysfunction and tear film abnormalities in rosacea. *Cornea* 1995; **14**: 144–146.
- 333 O'Donnell BF, Foulids IS. Visual impairment secondary to rosacea. *Br J Dermatol* 1992; **127**: 300–301.
- 334 Chen DM, Crosby DL. Periorbital edema as an initial presentation of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1997; **37**: 346–348.
- 335 Subashini K, Pushpa G, Venugopal V, Murali N. Rosacea with severe ophthalmic involvement and blindness - a rare occurrence: **Correspondence**. *Int J Dermatol* 2012; **51**: 1271–1273.
- 336 Lemp MA, Mahmood MA, Weiler HH. Association of Rosacea and Keratoconjunctivitis Sicca. *Arch Ophthalmol* 1984; **102**: 556–557.
- 337 Jenkins MS, Brown SI, Lempert SL, Weinberg RJ. Ocular Rosacea. *Am J Ophthalmol* 1979; **88**: 618–622.
- 338 Tan J, Blume-Peytavi U, Ortonne JP, Wilhelm K, Marticou L, Baltas E *et al*. An observational cross-sectional survey of rosacea: clinical associations and progression between subtypes. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 555–562.
- 339 van Zuuren EJ, Fedorowicz Z, Tan J, Linden MMD, Arents BWM, Carter B *et al*. Interventions for rosacea based on the phenotype approach: an updated systematic review including GRADE assessments. *Br J Dermatol* 2019; **181**: 65–79.
- 340 Tan J, Almeida LMC, Bewley A, Cribier B, Dlova NC, Gallo R *et al*. Updating the diagnosis, classification and assessment of rosacea: recommendations from the global ROS acea CO nsensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 431–438.
- 341 Schaller M, Almeida LMC, Bewley A, Cribier B, Del Rosso J, Dlova NC *et al*. Recommendations for rosacea diagnosis, classification and management: update from the global ROS acea CO nsensus 2019 panel. *Br J Dermatol* 2019; : bjd.18420.
- 342 Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on Demodex folliculorum in rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 1997; **27**: 183–195.

- 343 el-Shazly AM, Ghaneum BM, Morsy TA, Aaty HE. The pathogenesis of *Demodex folliculorum* (hair follicular mites) in females with and without rosacea. *J Egypt Soc Parasitol* 2001; **31**: 867–875.
- 344 Georgala S, Katoulis A, Kylafis G, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of *Demodex folliculorum* and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 441–444.
- 345 Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, Ruzicka T, Berking C. Noninvasive *in vivo* detection and quantification of *Demodex* mites by confocal laser scanning microscopy: Quantification of *Demodex* mites by CLSM. *Br J Dermatol* 2012; **167**: 1042–1047.
- 346 Zhao YE, Wu LP, Peng Y, Cheng H. Retrospective analysis of the association between *Demodex* infestation and rosacea. *Arch Dermatol* 2010; **146**: 896–902.
- 347 Jansen T, Plewig G, Kligman AM. Diagnosis and Treatment of Rosacea fulminans. *Dermatology* 1994; **188**: 251–254.
- 348 Jansen T, Plewig G. Fulminating rosacea conglobata (rosacea fulminans) and ulcerative colitis. *Br J Dermatol* 1997; **137**: 830–831.
- 349 Bormann G, Gaber G, Fischer M, Marsch W. Dapsone in rosacea fulminans. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 465–467.
- 350 Jansen T, Romiti R, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea fulminans triggered by high-dose vitamins B6 and B12. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 484–485.
- 351 Jansen T, Krug S, Kind P, Plewig G, Messer G. Bsm1 Polymorphism of the Vitamin D Receptor Gene in Patients with the Fulminant Course of Rosacea Conglobata (Rosacea Fulminans). *J Dermatol* 2004; **31**: 244–246.
- 352 Kharfi M, Zarrouk H, Nikkels A, Mokhtar I, Fazaa B, Arrese Estrada J *et al.* Granulomatous rosacea and demodicidosis. *Afr J Dermatol* 1991; **4**: 39–43.
- 353 Rufli T, Büchner SA. T-Cell Subsets in Acne rosacea Lesions and the Possible Role of *Demodex folliculorum*. *Dermatology* 1984; **169**: 1–5.
- 354 Buhl T, Sulk M, Nowak P, Buddenkotte J, McDonald I, Aubert J *et al.* Molecular and Morphological Characterization of Inflammatory Infiltrate in Rosacea Reveals Activation of Th1/Th17 Pathways. *J Invest Dermatol* 2015; **135**: 2198–2208.
- 355 Dajnoki Z, Béke G, Kapitány A, Mócsai G, Gáspár K, Rühl R *et al.* Sebaceous Gland-Rich Skin Is Characterized by TSLP Expression and Distinct Immune Surveillance Which Is Disturbed in Rosacea. *J Invest Dermatol* 2017; **137**: 1114–1125.
- 356 Brown TT, Choi E-YK, Thomas DG, Hristov AC, Chan MP. Comparative analysis of rosacea and cutaneous lupus erythematosus: Histopathologic features, T-cell subsets, and plasmacytoid dendritic cells. *J Am Acad Dermatol* 2014; **71**: 100–107.
- 357 Schwab VD, Sulk M, Seeliger S, Nowak P, Aubert J, Mess C *et al.* Neurovascular and Neuroimmune Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 53–62.

- 358 Lee SH, Lee SB, Heo JH, Yoon HS, Byun JW, Choi GS *et al.* Sebaceous glands participate in the inflammation of rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2020; **34**: e144–e146.
- 359 Powell FC. The Histopathology of Rosacea: ‘Where’s the Beef?’ *Dermatology* 2004; **209**: 173–174.
- 360 Gomaa AHA, Yaar M, Eyada MMK, Bhawan J. Lymphangiogenesis and angiogenesis in non-phymatous rosacea. *J Cutan Pathol* 2007; **34**: 748–753.
- 361 Steinhoff M, Buddenkotte J, Aubert J, Sulk M, Novak P, Schwab VD *et al.* Clinical, Cellular, and Molecular Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 2–11.
- 362 Smith JR, Lanier VB, Braziel RM, Falkenhagen KM, White C, Rosenbaum JT. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in rosacea. *Br J Ophthalmol* 2007; **91**: 226–229.
- 363 Webster G, Schaller M, Tan J, Jackson JM, Kerrouche N, Schäfer G. Defining treatment success in rosacea as ‘clear’ may provide multiple patient benefits: results of a pooled analysis. *J Dermatol Treat* 2017; **28**: 469–474.
- 364 Staedtler G, Shakery K, Endrikat J, Nkulikiyinka R, Gerlinger C. An empirically generated responder definition for rosacea treatment. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017; **Volume 10**: 347–352.
- 365 Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Liang MH, Odom R *et al.* Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2004; **50**: 907–912.
- 366 Schaller M, Dirschka T, Kemény L, Briantais P, Jacovella J. Superior Efficacy with Ivermectin 1% Cream Compared to Metronidazole 0.75% Cream Contributes to a Better Quality of Life in Patients with Severe Papulopustular Rosacea: A Subanalysis of the Randomized, Investigator-Blinded ATTRACT Study. *Dermatol Ther* 2016; **6**: 427–436.
- 367 Aksoy B, Altaykan-Hapa A, Egemen D, Karagöz F, Atakan N. The impact of rosacea on quality of life: effects of demographic and clinical characteristics and various treatment modalities: DLQI in rosacea. *Br J Dermatol* 2010; **163**: 719–725.
- 368 Bewley A, Fowler J, Schöfer H, Kerrouche N, Rives V. Erythema of Rosacea Impairs Health-Related Quality of Life: Results of a Meta-analysis. *Dermatol Ther* 2016; **6**: 237–247.
- 369 Baldwin HE, Harper J, Baradaran S, Patel V. Erythema of Rosacea Affects Health-Related Quality of Life: Results of a Survey Conducted in Collaboration with the National Rosacea Society. *Dermatol Ther* 2019; **9**: 725–734.
- 370 Rhodes LE, Parslew RAG, Ashworth J. Outcome of facial rashes with non-specific histological features: a long-term follow-up of 64 cases. *J Cutan Pathol* 1995; **22**: 160–163.
- 371 Powell FC. Rosacea. *N Engl J Med* 2005; **352**: 793–803.
- 372 McFalda WL, Roebuck HL. Rational management of papulopustular rosacea with concomitant facial seborrheic dermatitis: a case report. *J Clin Aesthetic Dermatol* 2011; **4**: 40–42.

- 373 Spoenclin J, Voegel JJ, Jick SS, Meier CR. A study on the epidemiology of rosacea in the U.K.: Rosacea in the U.K. *Br J Dermatol* 2012; **167**: 598–605.
- 374 Bose SK. Tinea Incognito Mimicking Red Face and Red Ear. *J Dermatol* 1995; **22**: 706–707.
- 375 Nedorost ST, Elewski B, Tomford JW, Camisa C. Rosacea-Like Lesions due to Familial Mycobacterium avium-intracellulare Infection. *Int J Dermatol* 1991; **30**: 491–497.
- 376 Wasserteil V, Jimenez-Acosta FJ, Kerdel FA. Disseminated Histoplasmosis Presenting as a Rosacea-like Eruption in a Patient with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Int J Dermatol* 1990; **29**: 649–651.
- 377 Navarrete-Dechent C, Busam KJ, Markova A. Facial Erythema in an Elderly Man. *JAMA Dermatol* 2020. doi:10.1001/jamadermatol.2020.0123.
- 378 Boralevi F, Léauté-Labrèze C, Lepreux S, Barbarot S, Mazereeuw-Hautier J, Eschard C *et al.* Idiopathic facial aseptic granuloma: a multicentre prospective study of 30 cases. *Br J Dermatol* 2007; **156**: 705–708.
- 379 Abram K, Silm H, Maarros H-I, Oona M. Risk factors associated with rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; **24**: 565–571.
- 380 Second J, Severac F, Paix A, Cribier B. Rhinophyma is associated with alcohol intake. *J Am Acad Dermatol* 2019; **81**: 249–250.
- 381 Aldrich N, Gerstenblith M, Fu P, Tuttle MS, Varma P, Gotow E *et al.* Genetic vs Environmental Factors That Correlate With Rosacea: A Cohort-Based Survey of Twins. *JAMA Dermatol* 2015; **151**: 1213–1219.
- 382 Chang ALS, Raber I, Xu J, Li R, Spitale R, Chen J *et al.* Assessment of the Genetic Basis of Rosacea by Genome-Wide Association Study. *J Invest Dermatol* 2015; **135**: 1548–1555.
- 383 Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP. Clustering of autoimmune diseases in patients with rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 667-672.e1.
- 384 Karpouzis A, Avgeridis P, Tripsianis G, Gatzidou E, Kourmouli N, Veletza S. Assessment of Tachykinin Receptor 3' Gene Polymorphism rs3733631 in Rosacea. *Int Sch Res Not* 2015; **2015**: 1–6.
- 385 Sáez-de-Ocariz M, Suárez-Gutiérrez M, Migaud M, O Farrill-Romanillos P, Casanova JL, Segura-Mendez NH *et al.* Rosacea as a striking feature in family members with a STAT1 gain-of-function mutation. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2020; **34**: e265–e267.
- 386 Thompson KG, Rainer BM, Leung S, Qi J, Chien AL, Kang S. The role of photo-induced collagen degeneration in the development of telangiectasias in rosacea. *J Invest Dermatol* 2019; **139**: S311.
- 387 Jansen T, Plewig G. Rosacea: Classification and Treatment. *J R Soc Med* 1997; **90**: 144–150.
- 388 Bae YI, Yun S-J, Lee J-B, Kim S-J, Won YH, Lee S-C. Clinical Evaluation of 168 Korean Patients with Rosacea: The Sun Exposure Correlates with the Erythematotelangiectatic Subtype. *Ann Dermatol* 2009; **21**: 243.
- 389 Brinnel H, Friedel J, Caputa M, Cabanac M, Grosshans E. Rosacea: disturbed defense against brain overheating. *Arch Dermatol Res* 1989; **281**: 66–72.

- 390 Kürkçüoğlu N, Alaybeyi F. Substance P immunoreactivity in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1991; **25**: 725–726.
- 391 Powell FC, Corbally N, Powell D. Substance P and rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993; **28**: 132–133.
- 392 Shaik-Dasthagirisahab YB, Varvara G, Murmura G, Saggini A, Potalivo G, Caraffa A *et al*. Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2013; **26**: 327–335.
- 393 Chen Y, Lyga J. Brain-skin connection: stress, inflammation and skin aging. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2014; **13**: 177–190.
- 394 Calvino B. Substance P et douleur : ne pas céder au réductionnisme pharmacologique. *MS Médecine Sci Rev Pap ISSN 0767-0974 1998 Vol 14 N° 6-7 P805-7 1998*. doi:10.4267/10608/1145.
- 395 Kendall SN. Remission of rosacea induced by reduction of gut transit time. *Clin Exp Dermatol* 2004; **29**: 297–299.
- 396 Steinhoff M, Vocanson M, Voegel JJ, Hacini-Rachinel F, Schäfer G. Topical Ivermectin 10 mg/g and Oral Doxycycline 40 mg Modified-Release: Current Evidence on the Complementary Use of Anti-Inflammatory Rosacea Treatments. *Adv Ther* 2016; **33**: 1481–1501.
- 397 Schaller M, Schöfer H, Homey B, Hofmann M, Gieler U, Lehmann P *et al*. Rosacea Management: Update on general measures and topical treatment options. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG* 2016; **14 Suppl 6**: 17–27.
- 398 Yamasaki K, Gallo RL. The molecular pathology of rosacea. *J Dermatol Sci* 2009; **55**: 77–81.
- 399 Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, Murakami M, Ohtake T, Coda A *et al*. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med* 2007; **13**: 975–980.
- 400 Bates J, Diehl L. Dendritic cells in IBD pathogenesis: an area of therapeutic opportunity? *J Pathol* 2014; **232**: 112–120.
- 401 Yamasaki K, Gallo RL. Rosacea as a Disease of Cathelicidins and Skin Innate Immunity. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 12–15.
- 402 Schaubert J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol* 2008; **122**: 261–266.
- 403 Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010; **10**: 482–496.
- 404 Zouboulis CC, Baron JM, Böhm M, Kippenberger S, Kurzen H, Reichrath J *et al*. Frontiers in sebaceous gland biology and pathology. *Exp Dermatol* 2008; **17**: 542–551.
- 405 Dombrowski Y, Peric M, Koglin S, Ruzicka T, Schaubert J. Control of cutaneous antimicrobial peptides by vitamin D3. *Arch Dermatol Res* 2010; **302**: 401–408.
- 406 Schaubert J, Gallo RL. The vitamin D pathway: a new target for control of the skins immune response? *Exp Dermatol* 2008; **17**: 633–639.

- 407 Schaubert J, Dorschner RA, Coda AB, Büchau AS, Liu PT, Kiken D *et al.* Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2007; **117**: 803–811.
- 408 Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, Borkowski AW, Morizane S, Nakatsuji T *et al.* TLR2 Expression Is Increased in Rosacea and Stimulates Enhanced Serine Protease Production by Keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 688–697.
- 409 Park K, Elias PM, Oda Y, Mackenzie D, Mauro T, Holleran WM *et al.* Regulation of cathelicidin antimicrobial peptide expression by an endoplasmic reticulum (ER) stress signaling, vitamin D receptor-independent pathway. *J Biol Chem* 2011; **286**: 34121–34130.
- 410 Gerber PA, Buhren BA, Steinhoff M, Homey B. Rosacea: the Cytokine and Chemokine Network. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 40–47.
- 411 Kulkarni NN, Takahashi T, Sanford JA, Tong Y, Gombart AF, Hinds B *et al.* Innate Immune Dysfunction in Rosacea Promotes Photosensitivity and Vascular Adhesion Molecule Expression. *J Invest Dermatol* 2020; **140**: 645-655.e6.
- 412 Salzer S, Kresse S, Hirai Y, Koglin S, Reinholz M, Ruzicka T *et al.* Cathelicidin peptide LL-37 increases UVB-triggered inflammasome activation: Possible implications for rosacea. *J Dermatol Sci* 2014; **76**: 173–179.
- 413 Muto Y, Wang Z, Vanderberghe M, Two A, Gallo RL, Di Nardo A. Mast Cells Are Key Mediators of Cathelicidin-Initiated Skin Inflammation in Rosacea. *J Invest Dermatol* 2014; **134**: 2728–2736.
- 414 Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, Yoon B-RP, Brewer A, Chartier S *et al.* Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* 2007; **204**: 253–258.
- 415 Fornasa G, Tsilingiri K, Caprioli F, Botti F, Mapelli M, Meller S *et al.* Dichotomy of short and long thymic stromal lymphopoietin isoforms in inflammatory disorders of the bowel and skin. *J Allergy Clin Immunol* 2015; **136**: 413–422.
- 416 Kim HS. Microbiota in Rosacea. *Am J Clin Dermatol* 2020. doi:10.1007/s40257-020-00546-8.
- 417 Zaidi AK, Spaunhurst K, Sprockett D, Thomason Y, Mann MW, Fu P *et al.* Characterization of the facial microbiome in twins discordant for rosacea. *Exp Dermatol* 2018; **27**: 295–298.
- 418 Rainer BM, Thompson KG, Antonescu C, Florea L, Mongodin EF, Bui J *et al.* Characterization and Analysis of the Skin Microbiota in Rosacea: A Case-Control Study. *Am J Clin Dermatol* 2020; **21**: 139–147.
- 419 Del Rosso JQ, Tanghetti E, Webster G, Stein Gold L, Thiboutot D, Gallo RL. Update on the Management of Rosacea from the American Acne & Rosacea Society (AARS). *J Clin Aesthetic Dermatol* 2019; **12**: 17–24.
- 420 Holmes AD. Potential role of microorganisms in the pathogenesis of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2013; **69**: 1025–1032.
- 421 Gallo RL, Granstein RD, Kang S, Mannis M, Steinhoff M, Tan J *et al.* Rosacea comorbidities and future research: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**: 167–170.

- 422 Gupta A, Chaudhry M. Rosacea and its management: an overview. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; **19**: 273–285.
- 423 Vemuri RC, Gundamaraju R, Sekaran SD, Manikam R. Major Pathophysiological Correlations of Rosacea: A Complete Clinical Appraisal. *Int J Med Sci* 2015; **12**: 387–396.
- 424 Woo YR, Lim JH, Cho DH, Park HJ. Rosacea: Molecular Mechanisms and Management of a Chronic Cutaneous Inflammatory Condition. *Int J Mol Sci* 2016; **17**: 1562.
- 425 Robinson TW. Demodex folliculorum and rosacea. A clinical and histological study. *Arch Dermatol* 1965; **92**: 542–544.
- 426 McMahon F, Banville N, Bergin DA, Smedman C, Paulie S, Reeves E *et al.* Activation of Neutrophils via IP3 Pathway Following Exposure to Demodex-Associated Bacterial Proteins. *Inflammation* 2016; **39**: 425–433.
- 427 Fredricks DN, Relman DA. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996; **9**: 18–33.
- 428 Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: An Antimicrobial Peptide with a Role in Inflammatory Skin Disease. *Ann Dermatol* 2012; **24**: 126–135.
- 429 Rainer BM, Kang S, Chien AL. Rosacea: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Dermatoendocrinol* 2017; **9**: e1361574.
- 430 Beerman H. A RE-EVALUATION OF THE ROSACEA COMPLEX: *Am J Med Sci* 1956; **232**: 458–473.
- 431 Sobyte P. Aetiology and pathogenesis of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1950; **30**: 137–158.
- 432 Rebora A, Drago F, Parodi A. May *Helicobacter pylori* Be Important for Dermatologists. *Dermatology* 1995; **191**: 6–8.
- 433 Rebora A, Drago F, Picciotto A. Helicobacter pylori in patients with rosacea. *Am J Gastroenterol* 1994; **89**: 1603–1604.
- 434 Kolibásová K, Tóthová I, Baumgartner J, Filo V. Eradication of Helicobacter pylori as the only successful treatment in rosacea. *Arch Dermatol* 1996; **132**: 1393.
- 435 Utaş S, Özbakir Ö, Turasan A, Utaş C. Helicobacter pylori eradication treatment reduces the severity of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1999; **40**: 433–435.
- 436 Mayr-Kanhäuser S, Kränke B, Kaddu S, Müllegger RR. Resolution of granulomatous rosacea after eradication of Helicobacter pylori with clarithromycin, metronidazole and pantoprazole: *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; **13**: 1379–1383.
- 437 Szlachcic A. The link between Helicobacter pylori infection and rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; **16**: 328–333.
- 438 Gravina A, Federico A, Ruocco E, Lo Schiavo A, Masarone M, Tuccillo C *et al.* Helicobacter pylori infection but not small intestinal bacterial overgrowth may play a pathogenic role in rosacea. *United Eur Gastroenterol J* 2015; **3**: 17–24.

- 439 Sharma VK, Lynn A, Kaminski M, Vasudeva R, Howden CW. A Study of the Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection and Other Markers of Upper Gastrointestinal Tract Disease in Patients With Rosacea: *Am J Gastroenterol* 1998; **93**: 220–222.
- 440 Son SW, Kim IH, Oh CH, Kim JG. The response of rosacea to eradication of *Helicobacter pylori*. *Br J Dermatol* 1999; **140**: 984–985.
- 441 Lazaridou E, Apalla Z, Sotiraki S, Ziakas N, Fotiadou C, Ioannides D. Clinical and laboratory study of rosacea in northern Greece. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; **24**: 410–414.
- 442 Bamford JTM, Tilden RL, Blankush JL, Gangeness DE. Effect of Treatment of *Helicobacter pylori* Infection on Rosacea. *Arch Dermatol* 1999; **135**. doi:10.1001/archderm.135.6.659.
- 443 Mindel JS, Rosenberg EW. Is *Helicobacter pylori* of Interest to Ophthalmologists? *Ophthalmology* 1997; **104**: 1729–1730.
- 444 Jørgensen A-HR, Egeberg A, Gideonsson R, Weinstock LB, Thyssen EP, Thyssen JP. Rosacea is associated with *Helicobacter pylori*: a systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**: 2010–2015.
- 445 Ramelet AA. Rosacea: A Reaction Pattern Associated With Ocular Lesions and Migraine? *Arch Dermatol* 1994; **130**: 1448.
- 446 Cunliffe WJ, Tan SG, Tebbs E. Rosacea, migraine, Dixarit. *Br J Dermatol* 1975; **93**: 11–11.
- 447 Spoenclin J, Voegel JJ, Jick SS, Meier CR. Migraine, triptans, and the risk of developing rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2013; **69**: 399–406.
- 448 Li W-Q, Zhang M, Danby FW, Han J, Qureshi AA. Personal history of rosacea and risk of incident cancer among women in the US. *Br J Cancer* 2015; **113**: 520–523.
- 449 Hua T-C, Chung P-I, Chen Y-J, Wu L-C, Chen Y-D, Hwang C-Y *et al*. Cardiovascular comorbidities in patients with rosacea: A nationwide case-control study from Taiwan. *J Am Acad Dermatol* 2015; **73**: 249–254.
- 450 Akin Belli A, Ozbas Gok S, Akbaba G, Etku F, Dogan G. The relationship between rosacea and insulin resistance and metabolic syndrome. *Eur J Dermatol* 2016; **26**: 260–264.
- 451 Rainer BM, Fischer AH, Luz Felipe da Silva D, Kang S, Chien AL. Rosacea is associated with chronic systemic diseases in a skin severity–dependent manner: Results of a case-control study. *J Am Acad Dermatol* 2015; **73**: 604–608.
- 452 Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP. Exploring the Association Between Rosacea and Parkinson Disease: A Danish Nationwide Cohort Study. *JAMA Neurol* 2016; **73**: 529.
- 453 Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP. Association of Rosacea With Risk for Glioma in a Danish Nationwide Cohort Study. *JAMA Dermatol* 2016; **152**: 541.
- 454 Egeberg A, Hansen PR, Gislason GH, Thyssen JP. Patients with rosacea have increased risk of dementia: Rosacea and Risk of Dementia. *Ann Neurol* 2016; **79**: 921–928.
- 455 Drago F, De Col E, Agnoletti AF, Schiavetti I, Savarino V, Rebora A *et al*. The role of small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: A 3-year follow-up. *J Am Acad Dermatol* 2016; **75**: e113–e115.

- 456 Wang F-Y, Chi C-C. Association of rosacea with inflammatory bowel disease: A MOOSE-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019; **98**: e16448.
- 457 Scharschmidt TC, Yost JM, Truong SV, Steinhoff M, Wang KC, Berger TG. Neurogenic Rosacea: A Distinct Clinical Subtype Requiring a Modified Approach to Treatment. *Arch Dermatol* 2010; **147**: 123.
- 458 Parkins GJ, Maan A, Dawn G. Neurogenic rosacea: an uncommon and poorly recognized entity? *Clin Exp Dermatol* 2015; **40**: 930–931.
- 459 Van Steensel MAM, Badeloe S, Winnepeninckx V, Vreeburg M, Steijlen PM, Van Geel M. Granulomatous rosacea and Crohn's disease in a patient homozygous for the Crohn-associated NOD2/CARD15 polymorphism R702W. *Exp Dermatol* 2008; **17**: 1057–1058.
- 460 Spoenclin J, Voegel JJ, Jick SS, Meier CR. Risk of Rosacea in Patients with Diabetes Using Insulin or Oral Antidiabetic Drugs. *J Invest Dermatol* 2013; **133**: 2790–2793.
- 461 Holmes AD, Spoenclin J, Chien AL, Baldwin H, Chang ALS. Evidence-based update on rosacea comorbidities and their common physiologic pathways. *J Am Acad Dermatol* 2018; **78**: 156–166.
- 462 Takci Z, Bilgili SG, Karadag AS, Kucukoglu ME, Selek S, Aslan M. Decreased serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015; **29**: 367–370.
- 463 Meneses MJ, Silvestre R, Sousa-Lima I, Macedo MP. Paraoxonase-1 as a Regulator of Glucose and Lipid Homeostasis: Impact on the Onset and Progression of Metabolic Disorders. *Int J Mol Sci* 2019; **20**. doi:10.3390/ijms20164049.
- 464 Johnson MB, Young AD, Marriott I. The Therapeutic Potential of Targeting Substance P/NK-1R Interactions in Inflammatory CNS Disorders. *Front Cell Neurosci* 2016; **10**: 296.
- 465 O'Neill CA, Monteleone G, McLaughlin JT, Paus R. The gut-skin axis in health and disease: A paradigm with therapeutic implications. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol* 2016; **38**: 1167–1176.
- 466 Zouboulis CC, Ju Q, Xiang L-HF. Editorial - The 3rd International Conference on Sebaceous Gland, Acne, Rosacea and Related Disorders. *Dermatoendocrinol* 2017; **9**: e1386419.
- 467 Marson JW, Baldwin HE. Rosacea: a wholistic review and update from pathogenesis to diagnosis and therapy. *Int J Dermatol* 2019; **59** (6): e175–e182.
- 468 Luo Y, Luan X-L, Zhang J-H, Wu L-X, Zhou N. Improved telangiectasia and reduced recurrence rate of rosacea after treatment with 540 nm-wavelength intense pulsed light: A prospective randomized controlled trial with a 2-year follow-up. *Exp Ther Med* 2020; **19**: 3543–3550.
- 469 Prieto VG, Sadick NS, Lloreta J, Nicholson J, Shea CR. Effects of intense pulsed light on sun-damaged human skin, routine, and ultrastructural analysis. *Lasers Surg Med* 2002; **30**: 82–85.
- 470 Ertaş R, Yaman O, Akkuş MR, Özlü E, Avcı A, Ulaş Y *et al*. The rapid effect of pulsed dye laser on demodex density of facial skin. *J Cosmet Laser Ther* 2019; **21**: 123–126.
- 471 Wang P, Zhang L, Shi L, Yuan C, Zhang G, Wang X. Latent Demodex infection contributes to intense pulsed light aggravated rosacea: cases serial. *J Cosmet Laser Ther* 2019; **21**: 163–165.

- 472 Espagne E, Guillaume JC, Archimbaud A, Baspeyras M, Boitier F, Bussière M *et al.* [Double-blind study versus excipient of 0.75% metronidazole gel in the treatment of rosacea]. *Ann Dermatol Venereol* 1993; **120**: 129–133.
- 473 Aronson IK, Rumsfield JA, West DP, Alexander J, Fischer JH, Paloucek FP. Evaluation of Topical Metronidazole Gel in Acne Rosacea. *Drug Intell Clin Pharm* 1987; **21**: 346–351.
- 474 Bleicher PA, Charles JH, Sober AJ. Topical metronidazole therapy for rosacea. *Arch Dermatol* 1987; **123**: 609–614.
- 475 Breneman DL, Stewart D, Hevia O, Hino PD, Drake LA. A double-blind, multicenter clinical trial comparing efficacy of once-daily metronidazole 1 percent cream to vehicle in patients with rosacea. *Cutis* 1998; **61**: 44–47.
- 476 Nielsen PG. Treatment of rosacea with 1% metronidazole cream. A double-blind study. *Br J Dermatol* 1983; **108**: 327–332.
- 477 Nielsen PG. A double-blind study of 1% metronidazole cream versus systemic oxytetracycline therapy for rosacea. *Br J Dermatol* 1983; **109**: 63–66.
- 478 Veien NK, Christiansen JV, Hjorth N, Schmidt H. Topical metronidazole in the treatment of rosacea. *Cutis* 1986; **38**: 209–210.
- 479 Nielsen PG. Metronidazole Treatment in Rosacea. *Int J Dermatol* 1988; **27**: 1–5.
- 480 Eriksson G, Nord CE. Impact of topical metronidazole on the skin and colon microflora in patients with rosacea. *Infection* 1987; **15**: 8–10.
- 481 Miyachi Y, Imamura S, Niwa Y. Anti-oxidant action of metronidazole: a possible mechanism of action in rosacea. *Br J Dermatol* 1986; **114**: 231–234.
- 482 Grove DI, Mahmoud AA, Warren KS. Suppression of cell-mediated immunity by metronidazole. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1977; **54**: 422–427.
- 483 Guilhou JJ, JJ G. Traitement de la rosacée par le métronidazole. 1979.
- 484 Kürkçüoğlu N, Atakan N. Metronidazole in the treatment of rosacea. *Arch Dermatol* 1984; **120**: 837.
- 485 Dahl MV, Katz HI, Krueger GG, Millikan LE, Odom RB, Parker F *et al.* Topical Metronidazole Maintains Remissions of Rosacea. *Arch Dermatol* 1998; **134**. doi:10.1001/archderm.134.6.679.
- 486 Mostafa F, El Harras M, Gomaa S, Al Mokadem S, Nassar A, Abdel Gawad E. Comparative study of some treatment modalities of rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; **23**: 22–28.
- 487 Gooderham M. Rosacea and its topical management. *Skin Ther Lett* 2009; **14**: 1–3.
- 488 Schulte BC, Wu W, Rosen T. Azelaic Acid: Evidence-based Update on Mechanism of Action and Clinical Application. *J Drugs Dermatol JDD* 2015; **14**: 964–968.
- 489 Coda AB, Hata T, Miller J, Audish D, Kotol P, Two A *et al.* Cathelicidin, kallikrein 5, and serine protease activity is inhibited during treatment of rosacea with azelaic acid 15% gel. *J Am Acad Dermatol* 2013; **69**: 570–577.

- 490 Wilkin JK, DeWitt S. Treatment of rosacea: topical clindamycin versus oral tetracycline. *Int J Dermatol* 1993; **32**: 65–67.
- 491 Breneman D, Savin R, VandePol C, Vamvakias G, Levy S, Leyden J. Double-blind, randomized, vehicle-controlled clinical trial of once-daily benzoyl peroxide/clindamycin topical gel in the treatment of patients with moderate to severe rosacea. *Int J Dermatol* 2004; **43**: 381–387.
- 492 Sauder DN, Miller R, Gratton D, Danby W, Griffiths C, Phillips SB. The treatment of rosacea: the safety and efficacy of sodium sulfacetamide 10% and sulfur 5% lotion (Novacet) is demonstrated in a double-blind study. *J Dermatol Treat* 1997; **8**: 79–85.
- 493 Lebwohl M, Medansky RS, Russo CL, Plott RT. The comparative efficacy of sodium sulfacetamide 10%/sulfur 5%(Sulfacet-R) lotion and metronidazole 0.75%(Metrogel) in the treatment of rosacea. *J Geriatr Dermatol* 1995; **3**: 183–5.
- 494 Blom I, Hornmark AM. Topical treatment with sulfur 10 per cent for rosacea. *Acta Derm Venereol* 1984; **64**: 358–359.
- 495 Milingou M, Antille C, Sorg O, Saurat J-H, Lübke J. Alcohol Intolerance and Facial Flushing in Patients Treated With Topical Tacrolimus. *Arch Dermatol* 2004; **140**. doi:10.1001/archderm.140.12.1542-b.
- 496 Pye RJ, Burton JL. Treatment of rosacea by metronidazole. *The Lancet* 1976; **307**: 1211–1212.
- 497 Schaller M, Schöfer H, Homey B, Gieler U, Lehmann P, Luger T *et al*. State of the art: systemic rosacea management. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges* 2016; **14**: 29–37.
- 498 Marks R, Ellis J. Comparative effectiveness of tetracycline and ampicillin in rosacea. A controlled trial. *Lancet Lond Engl* 1971; **2**: 1049–1052.
- 499 Torresani C, Pavesi A, Manara GC. Clarithromycin versus doxycycline in the treatment of rosacea. *Int J Dermatol* 1997; **36**: 942–946.
- 500 Sbidian E, Vicaut É, Chidiack H, Anselin E, Cribier B, Dréno B *et al*. A Randomized-Controlled Trial of Oral Low-Dose Isotretinoin for Difficult-To-Treat Papulopustular Rosacea. *J Invest Dermatol* 2016; **136**: 1124–1129.
- 501 Turjanmaa K, Reunala T. Isotretinoin treatment of rosacea. *Acta Derm Venereol* 1987; **67**: 89–91.
- 502 Marsden JR, Shuster S, Neugebauer M. Response of rosacea to isotretinoin. *Clin Exp Dermatol* 1984; **9**: 484–488.
- 503 Prigent F, Peyrot J. [Pustular rosacea. Treatment with 13-cis-retinoic acid]. *Ann Dermatol Venereol* 1984; **111**: 487–491.
- 504 Plewig G, Wagner A. Anti-inflammatory effects of 13-Cis-retinoic acid. An in vivo study. *Arch Dermatol Res* 1981; **270**: 89–94.
- 505 Plewig G, Nikolowski J, Wolff HH. Action of isotretinoin in acne rosacea and gram-negative folliculitis. *J Am Acad Dermatol* 1982; **6**: 766–785.
- 506 van Zuuren EJ, Fedorowicz Z. Low-Dose Isotretinoin: An Option for Difficult-to-Treat Papulopustular Rosacea. *J Invest Dermatol* 2016; **136**: 1081–1083.

- 507 Orfanos CE, Zouboulis CC, Almond-Roesler B, Geilen CC. Current Use and Future Potential Role of Retinoids in Dermatology: *Drugs* 1997; **53**: 358–388.
- 508 Jansen T, Plewig G. The treatment of rosaceous lymphoedema. *Clin Exp Dermatol* 1997; **22**: 57.
- 509 Schmidt JB, Gebhart W, Raff M, Spona J. 13-cis-Retinoic acid in rosacea. Clinical and laboratory findings. *Acta Derm Venereol* 1984; **64**: 15–21.
- 510 Krause MH, Torricelli R, Kündig T, Trüeb RM, Hafner J. Dapson bei granulomatöser Rosazea. *Hautarzt* 1997; **48**: 246–248.
- 511 Kligman AM. Ocular rosacea. Current concepts and therapy. *Arch Dermatol* 1997; **133**: 89–90.
- 512 Seal DV, Wright P, Ficker L, Hagan K, Troski M, Menday P. Placebo controlled trial of fusidic acid gel and oxytetracycline for recurrent blepharitis and rosacea. *Br J Ophthalmol* 1995; **79**: 42–45.
- 513 Ali ST, Alinia H, Feldman SR. The treatment of rosacea with topical ivermectin. *Drugs Today* 2015; **51**: 243.
- 514 Stein L, Kircik L, Fowler J, Tan J, Draelos Z, Fleischer A *et al.* Efficacy and safety of ivermectin 1% cream in treatment of papulopustular rosacea: results of two randomized, double-blind, vehicle-controlled pivotal studies. *J Drugs Dermatol JDD* 2014; **13**: 316–323.
- 515 Taieb A, Ortonne JP, Ruzicka T, Roszkiewicz J, Berth-Jones J, Peirone MH *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol* 2015; **172**: 1103–1110.
- 516 Stein Gold L, Kircik L, Fowler J, Jackson JM, Tan J, Draelos Z *et al.* Long-term safety of ivermectin 1% cream vs azelaic acid 15% gel in treating inflammatory lesions of rosacea: results of two 40-week controlled, investigator-blinded trials. *J Drugs Dermatol JDD* 2014; **13**: 1380–1386.
- 517 Kircik LH, Del Rosso JQ, Layton AM, Schaubert J. Over 25 Years of Clinical Experience With Ivermectin: An Overview of Safety for an Increasing Number of Indications. *J Drugs Dermatol JDD* 2016; **15**: 325–332.
- 518 Wolstenholme AJ, Rogers AT. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology* 2005; **131 Suppl**: S85-95.
- 519 van Zuuren EJ, van der Linden MMD, Arents BWM. Rosacea treatment guideline for the Netherlands. *Br J Dermatol* 2020; **182**: 1504–1506.
- 520 Siddiqui K, Gold LS, Gill J. The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of rosacea: a network meta-analysis. *SpringerPlus* 2016; **5**: 1151.
- 521 Schaller M, Kemény L, Havlickova B, Jackson JM, Ambroziak M, Lynde C *et al.* A randomized phase 3b/4 study to evaluate concomitant use of topical ivermectin 1% cream and doxycycline 40-mg modified-release capsules, versus topical ivermectin 1% cream and placebo in the treatment of severe rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2020; **82**: 336–343.
- 522 Cardwell L, Alinia H, Moradi Tuchayi S, Feldman S. New developments in the treatment of rosacea - role of once-daily ivermectin cream. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2016; **9**: 71–77.

- 523 Abokwidir M, Fleischer AB. Additional evidence that rosacea pathogenesis may involve demodex: new information from the topical efficacy of ivermectin and praziquantel. *Dermatol Online J* 2015; **21**: 13030/qt13v249f5.
- 524 Abokwidir M, Fleischer AB. An emerging treatment: Topical ivermectin for papulopustular rosacea. *J Dermatol Treat* 2015; **26**: 379–380.
- 525 Ruini C, Sattler E, Hartmann D, Reinholz M, Ruzicka T, von Braunmühl T. Monitoring structural changes in Demodex mites under topical Ivermectin in rosacea by means of reflectance confocal microscopy: a case series. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; **31**: e299–e301.
- 526 van Zuuren EJ, Fedorowicz Z. Interventions for rosacea: abridged updated Cochrane systematic review including GRADE assessments. *Br J Dermatol* 2015; **173**: 651–662.
- 527 Schaller M, Almeida LMC, Bewley A, Cribier B, Dlova NC, Kautz G *et al*. Rosacea treatment update: recommendations from the global ROS acea CO nsensus (ROSCO) panel. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 465–471.
- 528 Kanada KN, Nakatsuji T, Gallo RL. Doxycycline indirectly inhibits proteolytic activation of tryptic kallikrein-related peptidases and activation of cathelicidin. *J Invest Dermatol* 2012; **132**: 1435–1442.
- 529 Di Nardo A, Holmes AD, Muto Y, Huang EY, Preston N, Winkelman WJ *et al*. Improved clinical outcome and biomarkers in adults with papulopustular rosacea treated with doxycycline modified-release capsules in a randomized trial. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 1086–1092.
- 530 Thibaut de Ménonville S, Rosignoli C, Soares E, Roquet M, Bertino B, Chappuis J-P *et al*. Topical Treatment of Rosacea with Ivermectin Inhibits Gene Expression of Cathelicidin Innate Immune Mediators, LL-37 and KLK5, in Reconstructed and Ex Vivo Skin Models. *Dermatol Ther* 2017; **7**: 213–225.
- 531 Li J, Yuan X, Tang Y, Wang B, Deng Z, Huang Y *et al*. Hydroxychloroquine is a novel therapeutic approach for rosacea. *Int Immunopharmacol* 2020; **79**: 106178.
- 532 Picardo M, Eichenfield LF, Tan J. Acne and Rosacea. *Dermatol Ther* 2017; **7**: 43–52.
- 533 Saleem MD, Wilkin JK. Evaluating and Optimizing the Diagnosis of Erythematotelangiectatic Rosacea. *Dermatol Clin* 2018; **36**: 127–134.
- 534 Marks R, Dawber RP. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; **84**: 117–123.
- 535 Mills OH, Kligman AM. The follicular biopsy. *Dermatologica* 1983; **167**: 57–63.
- 536 Talghini S, Fouladi DF, Babaeinejad S, Shenasi R, Samani SM. Demodex Mite, Rosacea and Skin Melanoma; Coincidence or Association? *Turk J Parasitol* 2015; **39**: 41–46.
- 537 Chang Y-S, Huang Y-C. Role of Demodex mite infestation in rosacea: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol* 2017; **77**: 441-447.e6.
- 538 Karıncaoglu Y, Tepe B, Kalayci B, Atambay M, Seyhan M. Is *Demodex folliculorum* an aetiological factor in seborrhoeic dermatitis? *Clin Exp Dermatol* 2009; **34**: e516–e520.

- 539 Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for measurement of the density of *Demodex folliculorum*: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. *Br J Dermatol* 2010; **162**: 1124–1126.
- 540 Kligman AM, Christensen MS. *Demodex folliculorum*: Requirements for Understanding Its Role in Human Skin Disease. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 8–10.
- 541 Aktaş Karabay E, Aksu Çerman A. *Demodex folliculorum* infestations in common facial dermatoses: acne vulgaris, rosacea, seborrheic dermatitis. *An Bras Dermatol* 2020; **95**: 187–193.
- 542 Türkmen D, Türkoğlu G. *Demodex* Infestation in Patients with Rosacea. *Turk J Parasitol* 2019; **43**: 194–197.
- 543 Piérard GE, Piérard-Franchimont C, Paquet P, Hermanns-Lê T, Radermacher J, Delvenne P. Cyanoacrylate skin surface stripping and the 3S-Biokit advent in tropical dermatology: a look from Liège. *ScientificWorldJournal* 2014; **2014**: 462634.
- 544 Veasey J, Framil V, Ribeiro A, Lellis R. Reflectance confocal microscopy use in one case of Pityriasis folliculorum: a *Demodex folliculorum* analysis and comparison to other diagnostic methods. *Int J Dermatol* 2014; **53**: e254-257.
- 545 Longo C, Pellacani G, Ricci C, De Pace B, Argenziano G, Zalaudek I. In vivo detection of *Demodex folliculorum* by means of confocal microscopy. *Br J Dermatol* 2012; **166**: 690–692.
- 546 Harmelin Y, Le Duff F, Passeron T, Lacour J-P, Bahadoran P. Intérêt de la microscopie confocale par réflectance in vivo pour la détection des *Demodex*. *Ann Dermatol Vénérologie* 2017; **144**: 459–461.
- 547 Okyay P, Ertabaklar H, Savk E, Ertug S. Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: relation with sociodemographic/hygienic factors and acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; **20**: 474–476.
- 548 Zeytun E, Yazıcı M. Incidence and density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in patients with acne in the province of Erzincan, Turkey. *Int J Acarol* 2019; **45**: 108–112.
- 549 Yun CH, Yun JH, Baek JO, Roh JY, Lee JR. *Demodex* Mite Density Determinations by Standardized Skin Surface Biopsy and Direct Microscopic Examination and Their Relations with Clinical Types and Distribution Patterns. *Ann Dermatol* 2017; **29**: 137.
- 550 Huang H-P, Hsu C-K, Lee JY-Y. Thumbnail-squeezing method: an effective method for assessing *Demodex* density in rosacea. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* 2020; **34**: e343–e345.
- 551 Turgut Erdemir A, Gurel MS, Koku Aksu AE, Bilgin Karahalli F, Incel P, Kutlu Haytoğlu NS *et al.* Reflectance confocal microscopy vs. standardized skin surface biopsy for measuring the density of *Demodex* mites. *Skin Res Technol* 2014; **20**: 435–439.
- 552 Tas B, Ozdemir B, Ilktac M, Taskin B, Savk EM, Ozdalgicoglu C. Comparison of the Prevalences of *Demodex folliculorum* in Rosacea and Seborrheic Dermatitis with Standardized Skin Surface Biopsy. *WIMJ Open* 2015; **2**: 127.
- 553 Forton F. Does *Demodex folliculorum* play a role in perioral dermatitis? 2005; **85**: 193.
- 554 Bevins CL, Liu F-T. Rosacea: skin innate immunity gone awry? *Nat Med* 2007; **13**: 904–906.

- 555 Wanke I, Steffen H, Christ C, Krismer B, Götz F, Peschel A *et al.* Skin commensals amplify the innate immune response to pathogens by activation of distinct signaling pathways. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 382–390.
- 556 Lai Y, Di Nardo A, Nakatsuji T, Leichtle A, Yang Y, Cogen AL *et al.* Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat Med* 2009; **15**: 1377–1382.
- 557 Lacey N, Forton FMN, Powell FC. Demodex quantification methods: limitations of confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 212–213.
- 558 Ribeiro AE, Paschoal FM. Reflectance confocal microscopy enabling full viewing of Demodex sp. *Int J Dermatol* 2020; **59**: 1020–1021.
- 559 Levine A, Markowitz O. Introduction to reflectance confocal microscopy and its use in clinical practice. *JAAD Case Rep* 2018; **4**: 1014–1023.
- 560 Tan J. Evaluating rosacea noninvasively and objectively. *Br J Dermatol* 2019; : bjd.18446.
- 561 Forton FMN. Elucidating the role of Demodex folliculorum in the pathogenesis of rosacea: exciting first steps.... *Br J Dermatol* 2018; **179**: 252–253.
- 562 Forton FMN, De Maertelaer V. Treatment of rosacea and demodicosis with benzyl benzoate: effects of different doses on Demodex density and clinical symptoms. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; **34**: 365–369.
- 563 Forton FMN, De Maertelaer V. Effectiveness of benzyl benzoate treatment on clinical symptoms and Demodex density over time in patients with rosacea and demodicosis: a real life retrospective follow-up study comparing low- and high-dose regimens. *J Dermatol Treat* 2020; : 1–28.
- 564 Forton FMN, De Maertelaer V. Rosacea and Demodicosis: Little-known Diagnostic Signs and Symptoms. *Acta Derm Venereol* 2019; **99**: 47–52.
- 565 Forton F, De Maertelaer V. Erythematotelangiectatic rosacea may be associated with a subclinical stage of demodicosis: a case–control study. *Br J Dermatol* 2019; **181**: 818–825.
- 566 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Ser B Methodol* 1995; **57**: 289–300.
- 567 McDonald J. Multiple comparisons. In: *Handbook of Biological Statistics*. Sparky House Publishing: Baltimore, MD, 2014, pp 254–260.
- 568 Zander N, Sommer R, Schäfer I, Reinert R, Kirsten N, Zyriax B -C. *et al.* Epidemiology and dermatological comorbidity of seborrheic dermatitis: population-based study in 161 269 employees. *Br J Dermatol* 2019; **181**: 743–748.
- 569 Parodi A, Guarrera M, Rebora A. Flushing in rosacea: An experimental approach. *Arch Dermatol Res* 1980; **269**: 269–273.
- 570 Guzman-Sanchez DA, Ishiuiji Y, Patel T, Fountain J, Chan YH, Yosipovitch G. Enhanced skin blood flow and sensitivity to noxious heat stimuli in papulopustular rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2007; **57**: 800–805.

- 571 Hong JS, Han S, Lee JS, Lee C, Choi MH, Kim YK *et al.* Abnormal Glucocorticoid Synthesis in the Lesional Skin of Erythematotelangiectatic Rosacea. *J Invest Dermatol* 2019; **139**: 2225-2228.e3.
- 572 Meyer-Hoffert U, Schröder J-M. Epidermal Proteases in the Pathogenesis of Rosacea. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 16–23.
- 573 Meyer M, Müller A-K, Yang J, Šulcová J, Werner S. The role of chronic inflammation in cutaneous fibrosis: fibroblast growth factor receptor deficiency in keratinocytes as an example. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2011; **15**: 48–52.
- 574 Pagnoni A, Kligman AM, el Gammal S, Stoudemayer T. Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. *Br J Dermatol* 1994; **131**: 862–865.
- 575 Koller B, Müller-Wiefel AS, Rupec R, Korting HC, Ruzicka T. Chitin modulates innate immune responses of keratinocytes. *PLoS One* 2011; **6**: e16594.
- 576 Grosshans E, Dungler T, Kien TT, Kremer M. [Demodex folliculorum and rosacea: experimental and immunological studies]. *Z Hautkr* 1980; **55**: 1211–1218.
- 577 Liu Q, Arseculeratne C, Liu Z, Whitmire J, Grusby MJ, Finkelman FD *et al.* Simultaneous deficiency in CD28 and STAT6 results in chronic ectoparasite-induced inflammatory skin disease. *Infect Immun* 2004; **72**: 3706–3715.
- 578 Zaal A, Li RJE, Lübbers J, Bruijns SCM, Kalay H, van Kooyk Y *et al.* Activation of the C-Type Lectin MGL by Terminal GalNAc Ligands Reduces the Glycolytic Activity of Human Dendritic Cells. *Front Immunol* 2020; **11**: 305.
- 579 van Vliet SJ, Bay S, Vuist IM, Kalay H, García-Vallejo JJ, Leclerc C *et al.* MGL signaling augments TLR2-mediated responses for enhanced IL-10 and TNF- α secretion. *J Leukoc Biol* 2013; **94**: 315–323.
- 580 van Vliet SJ, van Liempt E, Geijtenbeek TBH, van Kooyk Y. Differential regulation of C-type lectin expression on tolerogenic dendritic cell subsets. *Immunobiology* 2006; **211**: 577–585.
- 581 Sim WJ, Ahl PJ, Connolly JE. Metabolism Is Central to Tolerogenic Dendritic Cell Function. *Mediators Inflamm* 2016; **2016**: 2636701.
- 582 van Vliet SJ, Gringhuis SI, Geijtenbeek TBH, van Kooyk Y. Regulation of effector T cells by antigen-presenting cells via interaction of the C-type lectin MGL with CD45. *Nat Immunol* 2006; **7**: 1200–1208.
- 583 Dillon S, Agrawal A, Van Dyke T, Landreth G, McCauley L, Koh A *et al.* A Toll-like receptor 2 ligand stimulates Th2 responses in vivo, via induction of extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase and c-Fos in dendritic cells. *J Immunol Baltim Md 1950* 2004; **172**: 4733–4743.
- 584 Chamorro S, García-Vallejo JJ, Unger WWJ, Fernandes RJ, Bruijns SCM, Laban S *et al.* TLR triggering on tolerogenic dendritic cells results in TLR2 up-regulation and a reduced proinflammatory immune program. *J Immunol Baltim Md 1950* 2009; **183**: 2984–2994.
- 585 Trompezinski S, Pernet I, Schmitt D, Viac J. UV radiation and prostaglandin E2 up-regulate vascular endothelial growth factor (VEGF) in cultured human fibroblasts. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc* 2001; **50**: 422–427.

- 586 Brauchle M, Funk JO, Kind P, Werner S. Ultraviolet B and H₂O₂ are potent inducers of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem* 1996; **271**: 21793–21797.
- 587 Voron T, Tartour É, Taieb J, Terme M. Rôle du VEGF dans l'épuisement des lymphocytes T intratumoraux. *médecine/sciences* 2015; **31**: 473–475.
- 588 Voron T, Marcheteau E, Pernot S, Colussi O, Tartour E, Taieb J *et al.* Control of the immune response by pro-angiogenic factors. *Front Oncol* 2014; **4**: 70.
- 589 Forton FMN. The Pathogenic Role of Demodex Mites in Rosacea: A Potential Therapeutic Target Already in Erythematotelangiectatic Rosacea? *Dermatol Ther* 2020. doi:10.1007/s13555-020-00458-9.
- 590 Powell FC. Rosacea and the pilosebaceous follicle. *Cutis* 2004; **74**: 9–12, 32–34.
- 591 Hoang-Xuan T, Rodriguez A, Zaltas MM, Rice BA, Foster CS. Ocular Rosacea. A histologic and immunopathologic study. *Ophthalmology* 1990; **97**: 1468–1475.
- 592 Tanzi EL, Weinberg JM. The ocular manifestations of rosacea. *Cutis* 2001; **68**: 112–114.
- 593 English FP, Cohn D. Demodex Infestation of the Sebaceous Gland. *Am J Ophthalmol* 1983; **95**: 843–844.
- 594 Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982; **94**: 383–387.
- 595 Cheikh-Rouhou F, Makni F, Ayadi A, Ghorbel R, Ben Zina Z. [Ocular parasitoses and mycoses: cases diagnosed in the Central University Hospital of Sfax between 1996 and 1999]. *Bull Soc Pathol Exot 1990* 2001; **94**: 11–13.
- 596 Lozato PA, Pisella PJ, Baudouin C. [The lipid layer of the lacrimal tear film: physiology and pathology]. *J Fr Ophtalmol* 2001; **24**: 643–658.
- 597 Barton K, Monroy DC, Nava A, Pflugfelder SC. Inflammatory Cytokines in the Tears of Patients with Ocular Rosacea. *Ophthalmology* 1997; **104**: 1868–1874.
- 598 Postulats de Koch — Wikipédia. https://fr.wikipedia.org/wiki/Postulats_de_Koch (accessed 18 Apr2020).
- 599 Vargas-Arzola J, Reyes-Velasco L, Segura-Salvador A, Márquez-Navarro A, Díaz-Chiguer D, Noguera-Torres B. Prevalence of *Demodex* mites in eyelashes among people of Oaxaca, Mexico. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2012; **59**: 257–262.
- 600 Bosomworth J. Obstacles Aux Interventions Cliniques Liées à L'activité Physique Dans Le Traitement Des Maladies Cardiométaboliques. *Can. Fam. Physician Med. Fam. Can.* 2019; **65**. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30867186/?from_single_result=Obstacles+aux+interventions+cliniques+li%C3%A9es+%C3%A0+l%E2%80%99activit%C3%A9+physique+dans+le+traitement+de+maladies+cardiom%C3%A9taboliques&expanded_search_query=Obstacles+aux+interventions+cliniques+li%C3%A9es+%C3%A0+l%E2%80%99activit%C3%A9+physique+dans+le+traitement+des+maladies+cardiom%C3%A9taboliques (accessed 14 Apr2020).
- 601 Comment juger la plausibilité d'un lien causal entre un facteur et la survenue d'une pathologie ? - Recherche Google.

<http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/102/?sequence=79#:~:text=Ce%20crit%C3%A8re%20se%20r%C3%A9f%C3%A8re%20simplement,crit%C3%A8re%20n%C3%A9cessaire%20%C3%A0%20la%20causalit%C3%A9>. (accessed 14 Apr2020).

- 602 Critères de Hill. Wikipédia. 2020. https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Crit%C3%A8res_de_Hill&oldid=167622895 (accessed 14 Apr2020).
- 603 Rothman KJ. Causes. *Am J Epidemiol* 1976; **104**: 587–592.
- 604 Bizouarn P, Kenneth J. Rothman and multicausality in epidemiology. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2012; **60**: 59–69.
- 605 Choi JE, Di Nardo A. Skin neurogenic inflammation. *Semin Immunopathol* 2018; **40**: 249–259.
- 606 Pavlov VA, Tracey KJ. The vagus nerve and the inflammatory reflex--linking immunity and metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2012; **8**: 743–754.
- 607 Pavlov VA, Tracey KJ. Neural circuitry and immunity. *Immunol Res* 2015; **63**: 38–57.
- 608 Yi JS, Cox MA, Zajac AJ. T-cell exhaustion: characteristics, causes and conversion. *Immunology* 2010; **129**: 474–481.
- 609 Silva Z, Ferro T, Almeida D, Soares H, Ferreira JA, Deschepper FM *et al*. MHC Class I Stability is Modulated by Cell Surface Sialylation in Human Dendritic Cells. *Pharmaceutics* 2020; **12**. doi:10.3390/pharmaceutics12030249.
- 610 Malinarich F, Duan K, Hamid RA, Bijin A, Lin WX, Poidinger M *et al*. High mitochondrial respiration and glycolytic capacity represent a metabolic phenotype of human tolerogenic dendritic cells. *J Immunol Baltim Md 1950* 2015; **194**: 5174–5186.
- 611 Wang Y, Zhang H, Fang R, Tang K, Sun Q. The Top 100 Most Cited Articles in Rosacea: A Bibliometric Analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; : jdv.16305.