

# Pemphigus foliacé dans l'espèce équine: Synthèse et description de 2 cas

AMORY H.<sup>1</sup>, BECO L.<sup>2</sup>, DESMECHT D.<sup>3</sup>, JACQUINET E.<sup>3</sup>, VANDENPUT S.<sup>1</sup>, LOMBA F.<sup>1</sup>

Service de médecine interne des grands<sup>1</sup> et des petits<sup>2</sup> animaux et service d'anatomie pathologique<sup>3</sup>,  
Faculté de médecine Vétérinaire, Université de Liège,  
Bât. B42, Sart Tilman, B 4000 Liège.

**RESUME.** Le pemphigus foliacé est la dermatose autoimmune la plus fréquemment rencontrée dans l'espèce équine. Aucun élément clinique ou examen complémentaire n'est pathognomonique de la pathologie, aussi l'ensemble de ceux-ci doit toujours être considéré pour poser le diagnostic. Dans cet article, l'étiologie, la physiopathologie, les éléments de diagnostic, le pronostic et le traitement de cette pathologie sont synthétisés et 2 cas cliniques chez des chevaux adultes sont décrits.

## INTRODUCTION

Bien que rapportées cliniquement depuis le XVIII<sup>ème</sup> siècle en médecine humaine et depuis la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle en médecine vétérinaire, les premières descriptions détaillées de dermatoses autoimmunes ne datent que du début et de la fin des années 70 respectivement chez le chien et chez le chat, et du début des années 80 chez le cheval (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1989; Noli, 1995). Depuis, l'intérêt suscité par ces pathologies a permis de définir de plus en plus d'éléments diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques à leur égard (Scott *et al.*, 1987).

Les dermatoses autoimmunes décrites chez les animaux comprennent les pemphigus foliacé, vulgaris et végétant, les lupus érythémateux systémique et discoïde, et la pemphigoïde bulleuse (Scott *et al.*, 1980). Parmi celles-ci et quelle que soit l'espèce considérée, le pemphigus foliacé est le plus largement représenté (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988).

Dans l'espèce équine, seuls le pemphigus foliacé (Scott *et al.*, 1980; Manning *et al.*, 1981; Peter *et al.*, 1981; Messer and Knight, 1982; Power *et al.*, 1982; George and White, 1984; Rothwell *et al.*, 1985;

Day et Penhale, 1986; Emond et Frevert, 1986; Griffith, 1987; Scott *et al.*, 1987; Schulte *et al.*, 1989; Laing *et al.*, 1992; Wolshein *et al.*, 1993), la pemphigoïde bulleuse (Manning *et al.*, 1981; Georges et White, 1984; Mallowney, 1985) et le lupus érythémateux systémique et discoïde (Scott, 1988; Vrins et Feldman, 1983) ont été décrits jusqu'à présent. D'autre part, le pemphigus foliacé, tout en étant la pathologie autoimmune la plus fréquemment rencontrée chez le cheval (Georges et White, 1984; Scott, 1988), reste malgré tout une dermatose rare dans cette espèce (Manning, 1983; Scott, 1988): c'est ainsi que dans une étude rétrospective portant sur une période de 5 ans, cette pathologie a été décrite chez 0.7% (9 cas sur 1270) de l'ensemble des biopsies équines soumises au service d'histopathologie vétérinaire de l'Université du Michigan (Dunstan, 1995). Dans une autre étude rétrospective portant sur 10 ans, Scott et collaborateurs (1987) rapportent que le pemphigus foliacé a représenté 1% (9 cas sur 850) des chevaux présentés au service de dermatologie de l'Université de Cornell.

En médecine humaine comme en médecine vétérinaire, la définition du pemphigus est variable selon la

discipline considérée. Ainsi, d'un point de vue clinique, ce terme désigne un groupe de maladies caractérisées par la formation de bulles par vagues successives. D'un point de vue histologique, ce terme désigne un groupe de dermatoses s'accompagnant de la formation de vésicules intraépidermiques avec acantholyse, c'est-à-dire une perte de cohésion entre les cellules de l'épiderme. Du point de vue immunologique, le terme pemphigus désigne un groupe de maladies autoimmunes bulleuses caractérisées par la présence d'anticorps circulants dirigés contre des antigènes de surface des kératinocytes et d'immunoglobulines fixées à la surface des kératinocytes. Enfin, la définition la plus récente du pemphigus se situe du point de vue moléculaire, regroupant les maladies autoimmunes dirigées contre des protéines transmembranaires desmosomiales (Scott, 1988; Yager *et al.*, 1993; Dunstan, 1995; Suter, 1995; Suter, 1996).

Le but de cet article est de synthétiser les connaissances actuelles concernant la physiopathologie, le diagnostic, le pronostic et le traitement du pemphigus foliacé chez le cheval et de décrire 2 cas rencontrés chez des chevaux adultes.



Fig. 1. Cas n° 1. Vue générale montrant l'amaigrissement, les œdèmes périphériques et la dermatose généralisée symétrique kératoséborrhéique.

## CAS CLINIQUES

### Cas n° 1

#### Anamnèse

Une jument de trait belge âgée de 3 ans et pesant 590 kg a été présentée en octobre à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège. L'anamnèse révélait une dermatose généralisée ayant débuté 4 mois auparavant. De plus, la jument présentait depuis 1 mois de l'amaigrissement en dépit d'un appétit conservé ainsi que des œdèmes périphériques depuis 15 jours. Avant l'apparition de ces problèmes, la jument était en bonne condition générale et présentait un embonpoint satisfaisant. Elle avait pouliné normalement au mois de mai de la même année et le poulain avait été sevré une dizaine de jours avant la présentation de la jument à la Faculté. Depuis le début de l'été, elle était entraînée régulièrement dans le but de la faire participer à une épreuve d'attelage. Attendu les problèmes présentés, l'entraînement avait cependant été interrompu.

Les lésions cutanées s'étaient d'abord manifestées au niveau du dos et du périnée, pour se généraliser ensuite à toute la surface corporelle. Divers traitements antibiotiques systémiques (association de pénicilline et streptomycine pendant 8 jours, oxytétracycline pendant 8 jours, association de chloramphénicol, prednisolone et oxytétracycline pendant 8 jours), antimycotiques (griséofulvine per os pendant 8 jours, bains d'énilconazole) et antiparasitaires (bains de lindane) avaient été instaurés sans amélioration.

#### Examen clinique

L'examen clinique a révélé un mauvais état général avec de l'abattement et un état de maigreur marqué (Fig. 1). La jument présentait de la tachycardie (fréquence cardiaque : 80/minute), de la polypnée (fréquence respiratoire : 60/minute) et de l'hyperthermie (température rectale : 39,6°C). Un pouls veineux bilatéral était clairement visible sur les 2 tiers de la hauteur des jugulaires. Un œdème douloureux à la palpation était présent au niveau de la tête, de la région sous-ventrale et sous-sternale et des 4 membres (Fig. 1 et 2). L'examen du système respiratoire a mis en évidence, outre la polypnée, une dyspnée mixte, une augmentation de l'amplitude des mouvements respiratoires, un assourdissement des bruits respiratoires à l'auscultation correspondant à une zone de matité à la percussion au niveau du lobe apical droit, ainsi que des râles inspiratoires et expiratoires dans le tiers supéro-distal du lobe diaphragmatique à l'auscultation du poumon gauche. L'examen dermatologique révélait la présence d'une dermatose généralisée symétrique kératoséborrhéique non prurigineuse (Fig. 1). La peau était épaissie. Le pelage était gras et malodorant avec présence d'un squamosis psoriasiforme adhérent à la base du poil. L'épilation était facile. Des zones alopeciques à contour irrégulier étaient présentes bilatéralement autour les lèvres et des yeux (Fig. 3).

#### Examens complémentaires

La radiographie pulmonaire a révélé une image interstitielle au niveau du



Fig. 2. Cas n° 1. Vue de face montrant l'œdème sous-sternal et des membres antérieurs.

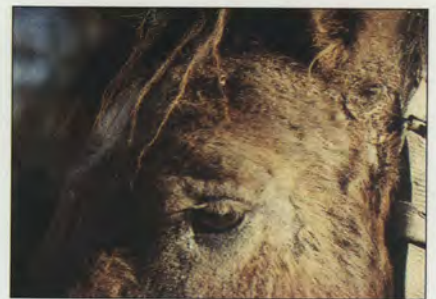


Fig. 3. Cas n° 1. Vue rapprochée de la région périorbitaire montrant l'alopecie à contour irrégulier autour de l'œil gauche et l'œdème diffus de la région.

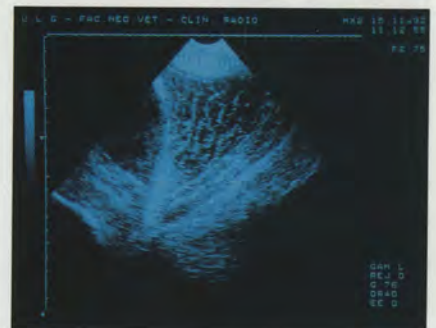


Fig. 4. Cas n° 1. Image échographique obtenue au niveau du 6<sup>ème</sup> espace intercostal droit, 10 cm au dessus du niveau de la pointe du coude. Cette image démontre la présence d'une masse d'une quinzaine de cm de profondeur, d'échogénicité irrégulière et trabéculée, circonscrite par une coque échodense de 1 à 2 cm d'épaisseur.

tiers supéro-distal du lobe diaphragmatique gauche et une opacité à contours irréguliers dans le lobe apical droit. L'examen échographique de cette dernière région a permis de mettre en évidence la présence d'une masse d'une quinzaine de cm de profondeur, d'échogénicité variable et trabéculée, et circonscrite par une coque échodense de 1 à 2 cm d'épaisseur (Fig. 4).

L'analyse des gaz sanguins artériels était normale. L'enregistrement de l'électrocardiogramme et la mesure directe des pressions cardiovasculaires droites par cathétérisme ne mettaient en évidence aucune anomalie.

L'examen hématologique a révélé une légère anémie normocytaire normochrome (globules rouges :  $5.84 \cdot 10^{12}/L$ ; hémoglobine: 9.6 g/dl; hématocrite: 26 %; volume corpusculaire moyen: 44.5 fl; hémoglobine corpusculaire moyenne : 16.4 pg; concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine : 36.9%). Le taux de globules blancs et la formule leucocytaire étaient normaux. La biochimie sanguine de routine mettait en évidence une hyperfibrinogénie (7.90 g/l), une hypoalbuminémie (15.7 gr/L), une hyperglobulinémie (47.4 gr/L) attribuable à une augmentation diffuse des  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -globulines, et un rapport albumine/globulines faible (0.33). Le taux de bilirubine totale et conjuguée, de créatinine et des électrolytes ainsi que l'activité des phosphatases alcalines, de la gamma- glutamyl transférase, de l'aspartate et de l'alanine transaminase se situaient dans les normes de référence.

L'examen parasitologique des matières fécales a mis en évidence la présence de 400 œufs de strongles/gr.

Des raclages cutanés multiples ont été réalisés. L'examen microscopique direct des poils et les cultures fongiques et bactériennes étaient négatifs.

Plusieurs biopsies cutanées ont été réalisées au niveau du thorax, de la face et de l'encolure. Sur certaines biopsies, l'examen histopathologique a révélé la présence de bulles intraépidermiques contenant de

nombreux acanthocytes associés «en radeau» et une imprégnation massive par des neutrophiles non dégénérés et par quelques éosinophiles (Fig. 5). Ces lésions anatomo-pathologiques étaient fortement suggestives d'un pemphigus foliacé.

### Evolution

Attendu le pronostic réservé et les impératifs financiers, la jument a été euthanasiée.

### Examen nécropsique

L'autopsie a permis de mettre en évidence une hypertrophie ganglionnaire généralisée et un infarctissement du lobe apical du poumon droit. L'examen histopathologique des ganglions hypertrophiés suggérait une réaction inflammatoire chronique intense sans évidence de phénomène infectieux. L'examen histopathologique des poumons n'a pu permettre de déterminer la nature des lésions attendu l'histolyse rapide des tissus prélevés.

### Cas n° 2

#### Anamnèse

Un hongre demi-sang de 17 ans de 420 kg a été traité chirurgicalement à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège

pour une double fracture de l'olécrane gauche. L'examen sanguin de routine réalisé en période préopératoire n'a permis de mettre en évidence aucune anomalie particulière. Durant son hospitalisation postopératoire d'une durée totale de 25 jours, il a subi une antibiothérapie incluant de la pénicilline, de la gentamycine et/ou du ceftiofur et une thérapie antiinflammatoire de phénylbutazone. Le cheval a ensuite été ramené chez lui avec pour traitement un confinement strict au box pendant 3 mois et une prolongation du traitement antiinflammatoire.

Vingt jours après son départ de l'hôpital, le cheval a développé une fourbure aiguë de l'antérieur droit et a dès lors été à nouveau admis à la clinique. La phase aiguë de la fourbure a été contrôlée au moyen du traitement suivant : gentamycine, pénicilline et phénylbutazone pendant 27 jours; pénicilline et phénylbutazone pendant 20 jours; et enfin phénylbutazone seule pendant 15 jours. Trois jours après l'arrêt de ce traitement, la fourbure aiguë de l'antérieur droit a récidivé. Dès lors, un traitement au moyen d'acépromazine et de phénylbutazone a été entamé pour 13 jours. Les 3 premiers jours de ce traitement, le cheval a reçu du diméthylsulfoxyde (DMSO). Le cheval a ensuite reçu un traitement consis-

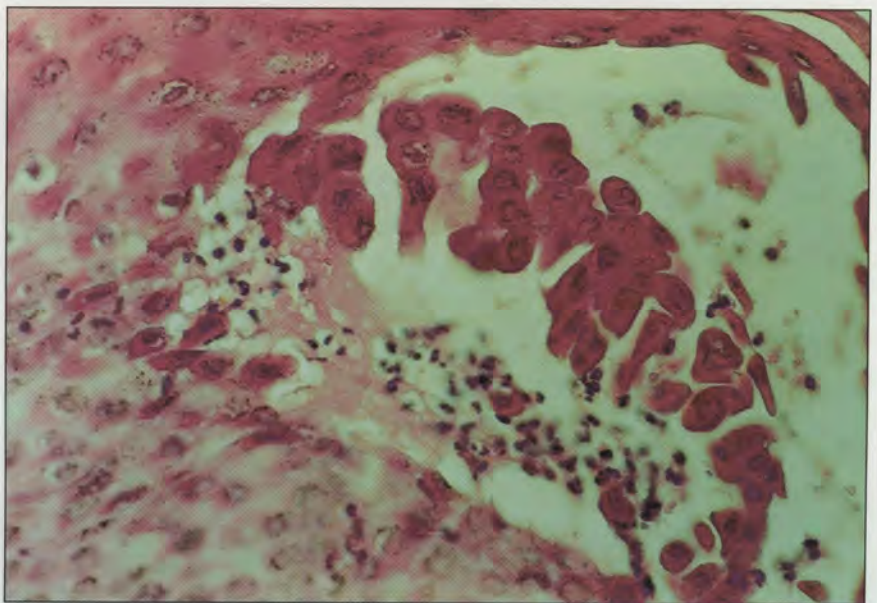


Fig. 5. Cas n° 1. Coupe histologique d'une biopsie cutanée montrant une bulle intraépidermique contenant de nombreux acanthocytes associés «en radeau» et une imprégnation massive par des neutrophiles. Ces lésions sont fortement suggestives d'un pemphigus foliacé.



Fig. 6. Cas n° 2. Vue générale montrant la dermatose alopecique croûteuse se localisant au niveau de la tête, de l'encolure, des épaules, des flancs et des membres.

tant en de l'acépromazine, de la pénicilline et de phénylbutazone pendant 15 jours, associé de nouveau à du DMSO pendant les 3 premiers jours.

Simultanément à ce dernier traitement, une dermatose croûteuse s'est déclarée. Les lésions ont débuté au niveau de la tête puis se sont étendues à l'encolure, aux épaules, aux flancs et aux membres en une dizaine de jours (Fig. 6). Cette extension a été accompagnée de plusieurs épisodes d'hyperthermie (température rectale fluctuant entre 38.0 et 39.0 °C).

### Examen clinique

L'examen général réalisé au stade de dermatose généralisée s'est avéré normal. Simultanément, l'examen dermatologique a révélé la présence de nombreuses squames et de quelques croûtes. Le pelage montrait des élevures en touffe et un aspect irrégulier (Fig. 7). L'épilation était facile. Sous certaines croûtes, un suintement de sérum était visible (Fig. 8). Des zones alopeciques symétriques au contour irrégulier étaient dessinées autour des yeux et des lèvres (Fig. 9).

### Examens complémentaires

Plusieurs examens sanguins de routine (hématologie et biochimie sanguine) réalisés simultanément à l'extension des lésions cutanées n'ont permis de mettre en évidence aucune anomalie particulière.

Des raclages et écouvillonnages cutanés ont été réalisés au niveau de la tête, de l'encolure et des flancs. Ces prélèvements se sont avérés négatifs pour la recherche de *Dermatophilus congolensis* ou autres bactéries, d'ectoparasites et d'agents de mycoses.

Un calque a été réalisé au niveau d'une lésion suintante après extraction d'une croûte. L'examen cytologique de ce frottis montrait des cellules acantholytiques attachées «en radeaux» et entourées de polynucléaires non dégénérés, ce qui suggérait un diagnostic de pemphigus foliacé (Fig. 10).

Des biopsies cutanées ont été prélevées sur des lésions croûteuses (aucune lésion primaire n'étant présente) au niveau de la face, de l'encolure et du poitrail. L'examen histopathologique des biopsies réalisées au niveau du poitrail a clairement montré la présence d'un clivage intraépidermique contenant de nombreux acanthocytes et des neutrophiles non dégénérés, ce qui confirmait la présomption de pemphigus foliacé.

### Evolution

En raison de la fourbure active et des faibles répercussions systémiques du pemphigus, il a été décidé de ne pas entamer un traitement au moyen de glucocorticoïdes.

Au cours de la suite de son hospitalisation, le cheval a encore été traité au moyen de phénylbutazone et d'acépromazine pendant 43 jours, puis seulement au moyen de phénylbutazone pendant encore 30 jours. Au cours de cette période, les lésions dermatologiques ont spontanément progressivement régressé. A sa sortie de l'hôpital, le cheval ne présentait presque plus de lésions cutanées, et durant les 6 mois qui ont suivi, ces dernières ont complètement disparu et aucune récurrence n'a été notée. Le



Fig. 7. Cas n° 2. Vue rapprochée d'une lésion cutanée montrant les élevures en touffes à aspect irrégulier.



Fig. 8. Cas n° 2. Vue rapprochée d'une lésion suintante après épilation d'une croûte.

cheval a cependant été euthanasié au terme de ces 6 mois en raison d'une récurrence sévère de la boiterie.

## DISCUSSION

### Etiologie et épidémiologie

L'étiologie exacte du pemphigus foliacé dans l'espèce équine demeure inconnue à l'heure actuelle (Scott, 1988). Il n'y a apparemment pas de tendance saisonnière ou géographique ni de prédisposition liée au

sexe (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Scott, 1989; Stannard, 1994). L'âge ne semble pas non plus important, la maladie ayant été décrite chez des chevaux âgés de 2 mois (Laing *et al.*, 1992) à 20 ans (Mullowney, 1985). Il semblerait cependant que la pathologie pourrait être plus fréquente chez des chevaux matures, c'est-à-dire de plus de 5 ans (Scott, 1988). Elle serait en outre associée à un meilleur pronostic lorsqu'elle se déclare chez des jeunes chevaux : c'est

ainsi que certains auteurs suggèrent même que chez le poulain, la guérison pourrait parfois être spontanée (Stannard, 1994). Aucune influence raciale n'a été clairement démontrée, quoique c'est dans la race appaloosa que le plus grand nombre de cas ont été décrits (Mullowney, 1985; Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Stannard, 1994). L'hypothèse d'une prédisposition héréditaire a été avancée par certains auteurs (Stannard, 1994). Dans de nombreux cas, il semble qu'un facteur déclenchant joue un rôle important dans la pathologie (Stannard, 1994). Parmi ces facteurs déclenchants, le stress, une maladie systémique ou encore l'administration de certains médicaments ont été incriminés (Stannard, 1994). Dans les 2 cas décrits dans le présent article, de tels facteurs de stress étaient présents et pourraient être responsables du déclenchement du pemphigus: c'est ainsi que l'allaitement associé à un entraînement physique intensif et l'intervention chirurgicale suivie d'une période de confinement et d'hospitalisation de longue durée pourraient respectivement être mis en cause dans le cas n° 1 et n° 2. L'association à une fourbure aiguë pourrait également avoir constitué un facteur de stress non négligeable chez le cheval n° 2. Remarquons en outre que l'administration de divers médicaments pourrait dans ce dernier cas également être incriminée dans le dé-



Fig. 9. Cas n° 2. Vue rapprochée de la tête montrant les zones alopéciques au contour irrégulier dessinées autour des yeux et des lèvres.

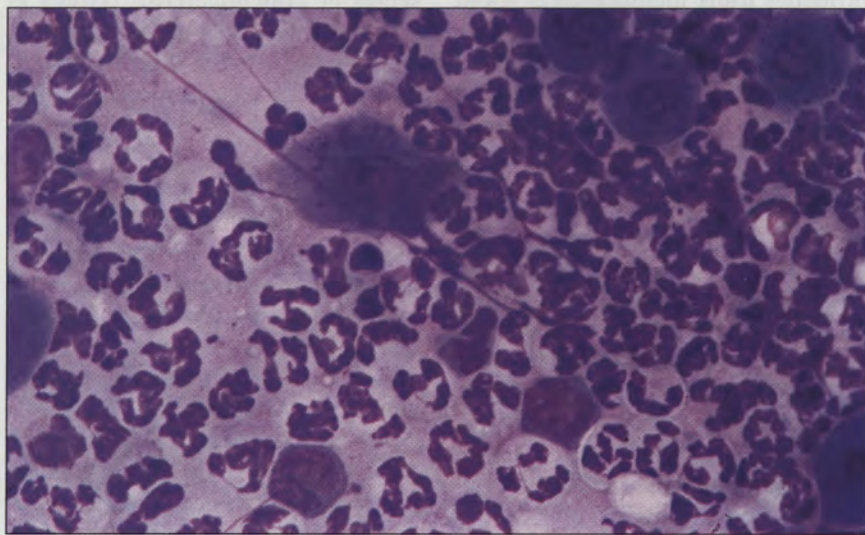


Fig. 10. Cas n° 2. Examen cytologique : calque par impression d'une lésion suintante sous croûte. Cet examen montre la présence d'acanthocytes et d'une infiltration inflammatoire essentiellement constituée de neutrophiles.

clenchement de la maladie, et ce d'autant plus que le pemphigus a régressé spontanément avec le temps, et notamment à l'arrêt de certains traitements comme la pénicilline et le DMSO. Une telle évolution est surprenante, étant donné que les cas de régression spontanée de pemphigus n'ont été qu'occasionnellement décrits chez le cheval, et concernaient surtout des jeunes chevaux (Georges et White, 1984; Griffith, 1987; Scott et al., 1987). L'hypothèse d'une induction iatrogène du pemphigus a été suspectée chez l'homme, le chat et le chien, suite à l'observation de cas de régression spontanée à l'arrêt de l'administration pendant une longue période de certains médicaments tels que certains dérivés thiolés (ex : la D-pénicillamine ou le captopril) ou encore certains antimycotiques, anti-inflammatoires non stéroïdiens ou antibiotiques (Affolter et Von Tscharnner, 1993; Yager et al., 1993; Griffin, 1995; Claudy, 1996).

### Physiopathologie

Chez un individu sain, la liaison des kératinocytes est assurée par différentes structures complexes assurant une liaison étroite entre les cellules tout en permettant à ces dernières de réaliser leur migration progressive vers les couches superficielles cornées de l'épithélium (Watt, 1988; Haftek, 1996). Parmi ces structures, il faut mentionner principalement les desmosomes qui sont composés de protéines trans-membranaires (dont font partie notamment les desmoglécines et les desmocollines regroupées sous le nom de cadhérines) et de plaques denses sous-membranaires (Haftek, 1996).

Le rôle des autoanticorps dans la pathogénie des pemphigus est actuellement clairement établie (Wolshein et al., 1993; Suter, 1995; Suter, 1996). Des études récentes ont par ailleurs permis d'établir que les antigènes concernés appartiennent, quelque soit le type de pemphigus, à la famille des cadhérines. Dans le cas du pemphigus foliacé, il a été démontré que l'antigène cible est la desmoglécine 1 (Dunstan, 1995; Suter, 1995; Suter, 1996).

Par contre, le mécanisme physiopathologique exact entraînant l'acan-

tholyse dans les pemphigus n'est pas encore déterminé (Wolshein et al., 1993; Suter, 1995; Suter, 1996). Plusieurs hypothèses ont été proposées à ce sujet. Celle qui semble la plus probable est que la liaison des autoanticorps sur leur site récepteur entraîne l'activation d'une voie d'activation intracellulaire encore inconnue, mais qui ne semble pas être médiée par la libération intracellulaire de calcium, et que cette activation aboutit à un dysfonctionnement de l'adhésion entre les kératinocytes (Suter, 1995).

### Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel d'une dermatose exfoliative squameuse ou croûteuse chez le cheval comprend principalement la dermatophytose (teigne), la dermatophilose, les folliculites bactériennes, les affections parasitaires et les dermatoses auto-immunes (Power et al., 1982; Georges et White, 1984; Mullowney, 1985; Emond et Frevert, 1986; Griffith, 1987; Scott, 1988; Scott, 1989; Vrins et al., 1992; Fadok, 1995). A ce tableau peuvent encore être intégrées des dermatoses plus rares, comme la sarcoïdose, la dermatite et stomatite exfoliative éosinophilique équine, les séborrhées primaires ou secondaires, les éruptions médicamenteuses, les dermatites de contact, la photodermatose, l'hypersensibilité aux piqûres d'insectes et l'onchocercose (Power et al., 1982; Georges et White, 1984; Mullowney, 1985; Scott, 1988; Scott, 1989; Stannard, 1994; Fadok, 1995).

Le diagnostic de pemphigus foliacé se base sur l'anamnèse, l'examen clinique, la cytologie de frottis directs, l'histopathologie des biopsies cutanées, les tests d'immunofluorescence directe et indirecte, et la réponse au traitement. Cependant, aucun de ces éléments ne permet de poser un diagnostic définitif à lui seul. Il faudra donc toujours interpréter les données cliniques en association avec les résultats de laboratoire pour pouvoir poser un diagnostic de pemphigus foliacé (Scott et al., 1980; Rothwell et al., 1985; Scott, 1988).

### Éléments cliniques de diagnostic

L'anamnèse des cas de pemphigus foliacé équins révèle souvent, comme c'était le cas pour les 2 cas rapportés ici, une dermatose chronique débutant au niveau de la tête et de l'encolure ou de la moitié ventrale du corps puis se généralisant rapidement, le plus souvent en quelques jours à quelques semaines (Manning, 1983; Mullowney, 1985; Manning et Sweeney, 1986; Scott, 1988; Scott, 1989; Stannard, 1994; Fadok, 1995). Les chevaux présentés ont souvent été traités sans succès au moyen d'antibiotiques, d'antimycotiques, d'antiparasitaires et/ ou de corticostéroïdes à dose anti-inflammatoire (Georges et White, 1984; Emond et Frevert, 1986; Griffith, 1987), comme cela avait été le cas pour le cas n° 1.

D'un point de vue clinique, les lésions primaires les plus caractéristiques du pemphigus foliacé sont des vésicules, des bulles et des pustules. Cependant, chez le cheval ces lésions sont très rarement détectées car elles sont très fragiles vu la finesse de l'épiderme dans cette espèce, et elles disparaissent dès lors très rapidement après leur formation (Mullowney, 1985; Scott, 1988; Vrins et al., 1992; Stannard, 1994). Remarquons que ces lésions n'ont pas été remarquées chez le cas n° 2, alors que celui-ci était hospitalisé au moment de la phase initiale de la maladie.

Le plus souvent, l'examen cutané révèle la présence de squames, de croûtes et de séborrhée généralisée associée à certaines zones d'alopecie, comme décrit dans les cas n° 1 et 2. Un suintement séreux peut être noté après décolllement des croûtes, comme rapporté chez le cas n° 2. La présence d'érosions annulaires bordées par une collerette épidermique peut être observée (Manning, 1983; Mullowney, 1985; Scott, 1988; Vrins et al., 1992; Fadok, 1995). Les jonctions cutanéomuqueuses peuvent parfois être impliquées mais les muqueuses ne sont habituellement pas touchées (Johnson et al., 1981; Mullowney, 1985; Stannard, 1994).

L'épaississement cutané généralisé observé dans le cas n° 1 est caractéristique des cas chroniques. Dans ces cas, l'épiderme se fissure souvent avec développement d'une infection bactérienne secondaire (Georges et White, 1984).

Un œdème douloureux (cas n° 1) au niveau des membres, surtout postérieurs, et sous l'abdomen est souvent mentionné (Power *et al.*, 1982; Manning, 1983; Scott, 1988; Stannard, 1994). Le prurit est variable, mais semble assez rare dans l'ensemble des cas rapportés (Power *et al.*, 1982; Manning, 1983; Manning et Sweeney, 1986; Scott, 1988; Stannard, 1994; Fadok, 1995).

Une forme particulière de pemphigus foliacé pourrait se limiter à la bande coronaire, comme cela a été décrit occasionnellement (Georges et White, 1984; Mallowney, 1985).

La lymphadénopathie périphérique généralisée remarquée à l'autopsie du cas n° 1 a rarement été rapportée lors de pemphigus foliacé équins (Rothwell *et al.*, 1985), alors qu'une telle réaction a été rapportée chez 30% des chiens et des chats souffrant de cette pathologie (Scott *et al.*, 1987).

Environ 50% des chevaux affectés par un pemphigus foliacé montrent également une répercussion systémique de la maladie, avec de la dépression, de l'hyperthermie, de la polypnée, une diminution d'appétit et/ou de l'amaigrissement (Peter *et al.*, 1981; Mallowney, 1985; Manning et Sweeney 1986; Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Stannard, 1994; Fadok, 1995). De tels signes ont été observés chez le cas n° 1, alors que seule une fièvre passagère a été notée dans le cas n° 2 au moment de la généralisation des lésions cutanées.

### **Examens complémentaires de diagnostic**

#### *Analyse de sang*

Chez les chevaux montrant des répercussions systémiques, l'analyse sanguine met souvent en évidence une légère anémie non régénérative,

ainsi qu'une neutrophilie, une hypoalbuminémie et une hyperglobulinémie modérées (Peter *et al.*, 1981; Emond et Frevert, 1986; Manning et Sweeney, 1986; Griffith, 1987; Scott, 1988; Scott, 1989; Laing *et al.*, 1992), ce qui est compatible avec les résultats obtenus chez le cas n° 1. Une élévation marquée du taux de fibrinogène sérique a plus rarement été rapportée dans des cas de pemphigus foliacé chez le cheval (Peter *et al.*, 1981; Emond et Frevert, 1986; Griffith, 1987; Laing *et al.*, 1992). Une telle hyperfibrinogénie n'est certes pas spécifique du pemphigus foliacé mais n'en demeure pas moins un élément diagnostique de cette pathologie qui pourrait s'avérer intéressant chez le cheval attendu l'importance de la déviation lorsqu'elle se produit.

#### *Frottis directs*

L'examen cytologique de frottis directs réalisés à partir de lésions récentes peut s'avérer intéressant pour suggérer le diagnostic : cet examen peut en effet démontrer la présence massive d'acanthocytes, certains de ceux-ci étant encore attachés entre eux par petits groupes. Ces acanthocytes sont généralement associés à des cellules inflammatoires, le plus souvent des neutrophiles et plus rarement des éosinophiles (Scott, 1988; Stannard, 1994). Ces éléments cytologiques sont suggestifs mais non pathognomoniques d'un pemphigus foliacé : en effet, toute dermatose suppurative peut donner lieu à la présence d'acanthocytes occasionnels sur les frottis directs (Scott, 1988; Scott, 1989; Stannard, 1994; Fadok, 1995). Ce type d'examen complémentaire est intéressant vu sa facilité et sa rapidité de réalisation, son caractère totalement non invasif et son faible prix de revient. Dans le cas n° 2, le caractère positif de cet examen a fortement encouragé la réalisation de biopsies cutanées pour confirmer le diagnostic.

#### *Biopsies cutanées*

L'examen histopathologique des biopsies cutanées est considéré par la plupart des auteurs comme étant l'élément de diagnostic le plus fiable de pemphigus foliacé (Scott *et al.*,

1980; Manning, 1983; Scott, 1988; Stannard, 1994; Fadok, 1995). Cependant, les faux négatifs sont fréquents et il faut donc généralement multiplier les biopsies, que l'on réalisera de préférence au niveau de lésions les plus récentes possibles et sans préparation préalable de la peau (Scott *et al.*, 1980; Scott, 1988; Stannard, 1994; Fadok, 1995). En outre, il peut s'avérer nécessaire de réaliser plusieurs sections par biopsie pour mettre les lésions en évidence. L'examen histopathologique des croûtes détachées peut également être utile : en effet, leur examen attentif peut permettre d'y déceler la présence d'acanthocytes (Stannard, 1994). Le problème majeur rencontré chez le cheval est de pouvoir disposer de lésions au stade idéal de développement (Scott, 1988). Pour augmenter les chances de succès, certains auteurs préconisent dès lors d'hospitaliser l'animal et le faire observer toutes les 2 à 6 heures afin de mettre en évidence et prélever les lésions primaires (Scott, 1988). Une telle technique n'est cependant pas applicable dans les cas chroniques, ceux auxquels le praticien est, malheureusement, le plus souvent confronté. Si aucune lésion primaire n'est disponible, l'alternative recommandée est de faire la biopsie au niveau d'une lésion recouverte d'une croûte (Fadok, 1995).

D'un point de vue histopathologique, le pemphigus foliacé se caractérise par la formation de pustules sous-cornéennes ou intragranuleuses au sein d'un épiderme plus ou moins acanthotique. Ces pustules contiennent des cellules inflammatoires, le plus souvent des neutrophiles mais parfois aussi des éosinophiles, ainsi que des kératinocytes acantholytiques en nombre variable et souvent associés en radeau de quelques acanthocytes qui flottent dans la pustule (Scott *et al.*, 1980; Georges et White, 1984; Mallowney, 1985; Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Gross *et al.*, 1992; Yager *et al.*, 1993). Il faut cependant toujours garder à l'esprit que de la dislocation entre les kératinocytes avec acantholyse secondaire peut aussi être observée dans tous les cas de folliculite superficielle : en effet, dans ces cas, lorsque les neutro-

philes migrent vers l'épiderme en libérant leurs enzymes protéolytiques, ces derniers peuvent provoquer une dislocation des adhésions intercellulaires. Par conséquent, il peut être difficile de différencier une folliculite superficielle d'un pemphigus foliacé d'un point de vue à la fois clinique et histopathologique (Khul *et al.*, 1994). C'est pourquoi dans une récente étude, Khul et collaborateurs (1994) ont comparé les lésions histopathologiques associées le plus fréquemment à chacune de ces 2 pathologies chez le chien. De cette étude, il a été conclu qu'une haute densité en cellules acantholytiques et la présence de plusieurs acanthocytes attachés entre eux au sein des bulles intraépidermiques volumineuses, englobant le plus souvent plusieurs follicules pileux, constituent les critères les plus objectifs de diagnostic de pemphigus foliacé.

#### *Immunofluorescence directe et indirecte*

Dans les cas douteux, les tests d'immunofluorescence directe et indirecte peuvent aider à confirmer le diagnostic de pemphigus foliacé (Scott, 1988; Scott, 1989).

Le test d'immunofluorescence directe permet de mettre en évidence le dépôt diffus intercellulaire d'immunoglobulines au sein de l'épiderme (Scott, 1988). Cependant, pour augmenter les chances de résultat positif, il est important de prélever des lésions primaires, ce qui, pour les raisons mentionnées ci-dessus, est rarement possible (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Scott, 1989). D'autre part, le prélèvement doit être transporté dans un milieu approprié, à savoir une solution de Michel gardée à un pH situé entre 7.0 et 7.2, ce qui peut être un facteur limitant en raison du prix de revient (Scott, 1988, Scott, 1989; Stannard, 1994). Selon certains auteurs, la congélation immédiate de prélèvements enrobés dans de la paraffine et leur analyse en immunofluorescence directe uniquement dans les cas où l'histopathologie classique s'avère négative pourrait constituer une solution alternative (Mullowney, 1985; Griffith, 1987; Stannard, 1994).

Même en respectant ces précautions techniques, l'immunofluorescence

directe peut donner des résultats faussement positifs ou faussement négatifs : c'est ainsi qu'il a été démontré que dans les dermatoses accompagnées de spongiose (c'est à dire d'un œdème intercellulaire des cellules épidermiques), comme par exemple la dermatophilose, l'immunofluorescence directe peut être faussement positive (Scott *et al.*, 1984) alors que le traitement préalable au moyen de glucocorticoïdes augmente de manière considérable la probabilité de résultats faussement négatifs (Scott *et al.*, 1980; Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Stannard, 1994). In fine, seulement 50 à 75% des cas de pemphigus foliacés non traités par des glucocorticoïdes donneraient des résultats positifs (Scott *et al.*, 1987; Stannard, 1994).

L'immunofluorescence indirecte démontre la présence d'anticorps «pemphigus» circulants (Stannard, 1994). Cependant, cette technique est considérée par de nombreux auteurs comme étant peu fiable, pouvant donner des résultats faussement positifs comme cela a été démontré chez des chevaux sains comme chez des chevaux atteints de dermatophilose ou de lymphosarcome cutané (Scott *et al.*, 1984). D'autre part, les faux négatifs sont également possibles, les titres d'anticorps étant souvent (40% selon certains auteurs) bas voire négatifs chez des chevaux présentant une maladie clinique active et des examens de laboratoires fortement suggestifs d'un pemphigus foliacé (Scott *et al.*, 1980; Scott, 1989; Mullowney, 1985).

En fait, les techniques d'immunofluorescence sont limitées par toute une série de contraintes techniques qui, si elles ne sont pas strictement contrôlées, sont la source d'erreurs fondamentales (Scott *et al.*, 1984). Dans les 2 cas décrits ici, ces techniques auraient pu être utilisées pour confirmer le diagnostic de pemphigus foliacé. Cependant, vu leur fiabilité réduite, elles n'ont pas été réalisées.

#### **Pronostic et traitement**

Le pronostic du pemphigus foliacé équin est généralement réservé à défavorable en raison des hautes doses

de médicaments immuno-suppressifs nécessaires pour enrayer la maladie et de la durée du traitement, qui semble souvent devoir être prolongé à vie (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Vrins *et al.*, 1992). Une fois une rémission clinique obtenue, ce qui peut se produire relativement rapidement, il faudra en effet souvent poursuivre le traitement à la dose de maintenance, sans quoi le risque de récurrence, généralement plus grave que l'accès initial de la maladie, est important (Mullowney, 1985; Scott *et al.*, 1987). C'est pourquoi avant d'entamer un traitement il faut, d'une part, mettre en œuvre un maximum d'examen complémentaires pour confirmer le diagnostic et, d'autre part, prévenir le propriétaire de la durée du traitement (Scott *et al.*, 1987; Scott, 1988; Scott, 1989; Fadok, 1995). Une exception à cette règle est le cas de pemphigus foliacé se développant chez des chevaux de moins d'un an : à cet âge, il semblerait qu'une fois les signes cliniques contrôlés par le traitement initial, il n'est pas nécessaire de poursuivre celui-ci, la guérison semblant le plus souvent être définitive, et même peut-être parfois spontanée (Power *et al.*, 1982; Scott, 1989; Laing *et al.*, 1992; Stannard, 1994; Fadok, 1995).

Le traitement le plus classique du pemphigus foliacé consiste à utiliser des glucocorticoïdes systémiques à dose immunosuppressive (Scott, 1988; Stannard, 1994). Au départ, il est vivement conseillé d'utiliser de la dexaméthasone à la dose de 0.2 mg/kg per os ou par voie intramusculaire (IM) 1 fois par jour ou encore de la prednisolone ou de la prednisone à raison de 1 mg/kg per os 2 fois par jour ou 2 à 4 mg/kg 1 fois par jour. Quand il n'y a plus apparition de nouvelles lésions, c'est à dire en moyenne après 7 à 10 jours, on peut réduire la fréquence d'administration à 1 jour/2 (Manning, 1983; Scott, 1988). Une autre façon de procéder est de réduire la dose de dexaméthasone de 20 % par semaine puis de passer à la prednisolone ou à la prednisone (Stannard, 1994). Le but sera de réduire progressivement la dose jusqu'à une dose de maintenance (0.5 mg/kg de prednisolone ou de prednisone per os 1 jour/2).



Remarquons qu'il n'existe aucun critère objectif pour décider du moment où le traitement peut être réduit à une dose inférieure (Manning, 1983) et que si on réduit trop rapidement les doses, le risque de récurrence semble augmenter avec en outre développement d'une résistance au traitement (Mullowney, 1985; Stannard, 1994). Une autre problème majeur rencontré lors de l'utilisation de glucocorticoïdes à hautes doses et à long terme est le risque non négligeable d'infections secondaires, de développement de fourbure, de troubles de la croissance chez les jeunes chevaux et encore d'avortement chez les juments en fin de gestation (Peter *et al.*, 1981; Georges et White, 1984; Mullowney, 1985; Griffith, 1987; Fadok, 1995). De tels effets secondaires n'ont cependant été rapportés que rarement chez des chevaux en traitement de pemphigus foliacé par des corticoïdes aux doses indiquées ci-dessus (Scott, 1989). Remarquons que si aucune amélioration clinique n'est notée après les 10 jours initiaux de traitement, il est conseillé de changer de corticoïde (Scott, 1989).

L'expérience clinique de l'utilisation de sels d'or dans le traitement du pemphigus foliacé chez le cheval est limitée. Cependant, les premiers résultats obtenus au moyen de cette thérapie semblent très encourageants (Power *et al.*, 1982; Emond et Frevert, 1986; Griffith, 1987; Scott, 1988; Stannard, 1994). Le plus utilisé de ces sels est l'aurothioglucose (Stannard, 1994), seul ou en association avec des glucocorticoïdes, cette dernière solution étant la plus largement préconisée (Manning, 1983; Manning et Sweeney, 1986; Griffith, 1987). Les

meilleurs résultats semblent être obtenus en commençant l'aurothioglucose 2 à 4 semaines après le début du traitement glucocorticoïde (Manning, 1983; Scott, 1988): une première dose test de 20 mg IM est d'abord utilisée, puis une seconde dose test de 40 à 50 mg IM est administrée une semaine plus tard. Ensuite, on passera à 1 mg/kg IM 1 fois par semaine pendant 6 à 12 semaines, soit jusqu'à obtention d'une guérison clinique (Stannard, 1994; Fadok, 1995). Le traitement sera ensuite limité à l'aurothioglucose dont l'administration sera réduite à 2 X puis 1 x/mois, ce qui rend son utilisation plus pratique. De plus, vu la faible fréquence d'administration, ce traitement représente un prix de revient moindre que les glucocorticoïdes en phase de maintien (Power *et al.*, 1982). Chez l'homme et chez les petits animaux, des effets secondaires (notamment thrombocytopenie, protéinurie, éruptions médicamenteuses et nécrolyse épidermique toxique) ont été décrits en réponse à ce traitement mais sont en général bénins et réversibles dès la suspension de celui-ci (Power *et al.*, 1982; Manning, 1983; Griffith, 1987; Scott, 1988). Ils n'ont jamais été décrits jusqu'à présent chez le cheval. Cependant, à titre de précaution, plusieurs auteurs suggèrent de réaliser régulièrement (toutes les 2 semaines en phase d'induction et toutes les 3 semaines ensuite) des contrôles sanguins et urinaires chez les chevaux soumis à ce traitement (Manning, 1983; Scott, 1989).

## CONCLUSIONS

En conclusion, le diagnostic de pemphigus foliacé doit toujours globaliser les éléments cliniques et les résultats des examens de laboratoire, le

plus spécifique de ceux-ci étant l'histopathologie des biopsies cutanées. Les 2 cas décrits dans cet article rappellent l'aspect clinique caractéristique de la maladie et soulignent les répercussions systémiques fréquentes de celle-ci. D'autre part, l'intervention d'éléments déclenchants, dont l'administration de certains médicaments, est suggérée.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le service de chirurgie des grands animaux de la faculté vétérinaire (ULg) et le docteur C. Massard pour la confiance qu'ils leur ont accordé en leur référant les 2 cas rapportés dans cet article ainsi que les propriétaires de ces 2 chevaux, Mr Barbe et Mr Ridelle, pour leur collaboration. Ils sont également reconnaissant au Professeur F. Coignoul pour son aide dans l'interprétation des coupes histopathologiques, ainsi qu'à D. Delhaise et R. Malice pour leur collaboration technique.

## SUMMARY

### Equine pemphigus foliaceus: literature review and description of two cases.

Pemphigus foliaceus is the commonest equine autoimmune dermatosis. There is no pathognomonic clinical finding or ancillary test for the disease. Therefore, it is essential to take into account clinical and laboratory findings as a whole to make the diagnosis. In this paper, the etiology, pathophysiology, diagnosis keys, prognosis and treatment of equine pemphigus foliaceus are reviewed, and 2 cases in adult horses are described.

## BIBLIOGRAPHIE

- AFFOLTER V.K. et VON TSCHARNER C. Cutaneous drug reactions: a retrospective study of histopathological changes and their correlation with the clinical disease. *Vet. Dermatol.* 1993; **4**: 79-86.
- CLAUDY A. Les pemphigus medico-induits. In proceedings : *Immunopathologie cutanée*. 3ème cours spécialisé du GEDAC, Lyon, février 1996. pp 190-191.
- DAY M.J. et PENHALE W.J. Immunodiagnosis of autoimmune skin disease in the dog, cat and horse. *Austr. Vet. J.* 1986; **63**: 65-68.
- DUNSTAN, R.W. Microscopic morphology of pemphigus: implications for pathogenesis. In Proceedings: *Controversies in veterinary dermatology III - Pemphigus diseases*, Bad Kreuznach, June 1995. pp1-28.
- EMOND R.J. et FREVERT C. Pemphigus foliaceus in a horse. *Modern Vet. Practice* 1986; 527-530.
- FADOK V.A. An overview of equine dermatoses characterized by scaling and crusting. *Vet. Clin. North Am. Equine Practice* 1995; **11**: 43-59.
- GEORGE L.W. et WHITE S.L. Autoimmune skin disease of large animals. *Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.)* 1984; **6**: 79-86.

- GRIFFIN G.E. Pemphigus. Clinical findings and management. In proceedings : *Controversies in veterinary dermatology III - Pemphigus diseases*, Bad Kreuznach, June 1995. pp 1-10.
- GRIFFITH G. Pemphigus foliaceus in a welsh pony. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 1987; **9**: 347-353.
- GROSS T.L., IHRKE P., WALDER E.J. Veterinary dermatopathology. A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease. Reinhardt RW et Steube M. (Eds), Mosby Cie, St Louis 1992. pp 16-18, 245-247.
- HAFTEK M. Constituants de la jonction dermo-épidermique et des jonctions interkératinocytaires. In proceedings : *Immunopathologie cutanée*. 3ème cours spécialisé du GEDAC, Lyon, février 1996. pp 170-174.
- JOHNSON M.E., SCOTT D.W., MANNING T.O., SMITH C.A. & LEWIS R.M. Pemphigus foliaceus in the horse. *Equine Pract.* 1981; **3**: 40-45.
- KUHL K.A., SHOFRER F.S. & GOLDSCHMIDT M.H. Comparative histopathology of pemphigus foliaceus and superficial folliculitis in the dog. *Vet. Pathol.* 1994; **31**: 19-27.
- LAING J.A., ROTHWELL, T.L.W. & PENHALE, W.J. Pemphigus foliaceus in a 2-month-old foal. *Equine Vet. J.* 1992; **24**: 490-491.
- MANNING T.O. Pemphigus foliaceus. In : *Current therapy in equine medicine*. Robinson N.E. (Ed), Philadelphia 1983. pp 541-542.
- MANNING T.O., SCOTT D.W., REBHUN W.C., SMITH C.A. & LEWIS R.M. Pemphigus-pemphigoid in a horse. *Equine Pract.* 1981; **3**: 38-44.
- MANNING T, SWEENEY C. Immune-mediated equine skin diseases. *Comp. Cont. Ed. Pract.* 1986; **8**: 979-986.
- MESSER N.T. et KNIGHT A.P. Pemphigus foliaceus in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1982; **180**: 938-940.
- MULLOWNEY P.C. Dermatologic diseases of horses, part V: allergic, immune-mediated, and miscellaneous skin diseases. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 1985; **7**: S212-227.
- NOLI C. The history of pemphigus and a literature review. In proceedings: *Controversies in veterinary dermatology III - Pemphigus diseases*. Bad Kreuznach: 1995: pp1-13.
- PETER J.E., MORRIS P.G. & GORDON B.J. Pemphigus in a thoroughbred. *Equine Pract.* 1981; **1203-1206**.
- POWER H.T., MCEVOY E.O. & MANNING T.O. Use of a gold compound for the treatment of pemphigus foliaceus in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1982; **180**: 400-403.
- ROTHWELL T.L.W., MERRITT G.C., MIDDLETON D.J. & ROSE R.J. Possible pemphigus foliaceus in a horse. *Austr. Vet. J.* 1985; **62**: 429-430.
- SCOTT D.W. Pemphigus foliaceus. In: *Large animal dermatology*. Pedersen D. (Ed.), Philadelphia. 1988; pp 306-311.
- SCOTT D.W. Autoimmune skin diseases in the horse. *Equine Pract.* 1989; **11**: 20-32.
- SCOTT D.W., WOLFE M.J., WOLFE M.J., SMITH C.A. & LEWIS R.M. The comparative pathology of non-viral skin diseases in domestic animals. *Vet. Pathol.* 1980; **17**: 257-281.
- SCOTT D.W., WALTON D.K., SMITH A. & LEWIS R.M. Pitfalls in immunofluorescence testing in dermatology. III. Pemphigus-like antibodies in the horse and indirect immunofluorescence testing in equine dermatophilosis. *Cornell Vet.* 1984; **74**: 305-311.
- SCOTT D.W., WALTON D.K., SLATER M.R., SMITH C.A. & LEWIS R.M. Immune-mediated dermatoses in domestic animals: ten years after -part I. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1987; **9**: 424-435.
- SCHULTE A., STADLER P., OTTO B., DEEGEN E. & TRAUTWEIN G. Pemphigus foliaceus beim pferd. *Pferdeheilkunde* 1989; **5**: 23-30.
- STANNARD A.A. Equine pemphigus foliaceus. In Proceedings: *workshop in equine dermatology, European Society of veterinary dermatology*, Newmarket, July 1994; pp 44-47.
- SUTER M.M. Pathogenesis of pemphigus. In proceedings: *Controversies in veterinary dermatology III - Pemphigus diseases*. Bad Kreuznach: 1995: 1-5.
- SUTER M.M. Canine pemphigus. In proceedings : *immunopathologie cutanée*. 3ème cours spécialisé du GEDAC, Lyon, février 1996. pp 177-181.
- VRINS A. & FELDMAN B.F. Lupus erythematosus-like syndrome in a horse. *Equine Pract.* 1983; **5**: 18-25.
- VRINS A., PARADIS M. & SCOTT D.W. Dermatologie équine. 1ère partie : les affections alopeciques et les affections prurigineuses. *pratique Vét. Equine*, 1992; **24**: 73-80.
- WATT F.M. Cell shape controls terminal differentiation of human epidermal keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; **85**: 5576-5580.
- WOLSHEIN P., TRAUTWEIN G. & DEEGEN E. Pemphigus foliaceus in a horse. *Vet. Dermatology* 1993; **4**: 27-32.
- YAGER J.A., SCOTT D.W. & WILCOCK P. Skin and appendages. In : *Pathology of domestic animals*. Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et Palmer N. (Ed), 3th Ed., Vol. 1; Orlando, 1993; pp 531-737.