

Université de Montréal

ÉTUDE DE L'APLASIA CUTIS CONGENITA (*EPITHELIOGENESIS IMPERFECTA*)
CHEZ L'ESPÈCE PORCINE

11718397

par

Marie-Odile Benoit-Biancamano

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option pathologie

Janvier 2006



© Marie-Odile Benoit-Biancamano, 2006

SF

607

US4

2006

Y013

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

ÉTUDE DE L'*APLASIA CUTIS CONGENITA (EPITHELIOGENESIS IMPERFECTA)*
CHEZ L'ESPÈCE PORCINE

présenté par :

Marie-Odile Benoit-Biancamano

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Manon Paradis, présidente-rapporteuse

Richard Drolet, directeur de recherche

Sylvie D'Allaire, codirectrice

Pierre Hélie, membre du jury

Résumé

Des cas d'*epitheliogenesis imperfecta* (épithéliogénèse imparfaite) ont été rapportés chez plusieurs espèces animales et une transmission autosomique récessive est suspectée chez la plupart des animaux. L'expression *epitheliogenesis imperfecta* a été utilisée pour décrire deux entités pathologiques différentes, soit l'*epidermolysis bullosa* et l'*aplasia cutis congenita*, qui sont toutes deux caractérisées macroscopiquement par une absence localisée d'épithélium cutané ou muqueux. Les lésions sont le plus souvent décrites aux extrémités des membres et dans la cavité orale. L'épithéliogénèse imparfaite a été rapportée chez le porc, quoique la littérature à ce sujet soit peu abondante. Afin de mieux caractériser cette entité, 70 porcelets présentant des lésions cutanées congénitales compatibles avec de l'*epitheliogenesis imperfecta* ont été examinés. À l'exception d'un cas, un seul animal par portée était affecté. Soixante-cinq (93%) des animaux affectés étaient des mâles, suggérant que ce défaut soit relié au sexe. Plus de la moitié des porcelets présentaient des lésions cutanées multiples. Tous les défauts cutanés se retrouvaient dans la moitié caudale du corps, et aucun n'a été observé dans la cavité orale. La plupart des lésions étaient caractérisées par une absence de l'épiderme, d'une partie du derme et des annexes. Des foyers de dysplasie cutanée ont aussi été observés dans plusieurs des lésions cutanées, en association ou non avec des lésions d'épithéliogénèse imparfaite, suggérant un défaut de développement cutané. Des bulles sous-cutanées congénitales ont également été observées macroscopiquement chez 7

porcelets; leur relation avec l'*epitheliogenesis imperfecta* demeure toutefois incertaine. Étant donné que le terme *epitheliogenesis imperfecta* a été utilisé dans des cas d'épidermolyse bulleuse, l'expression *aplasia cutis congenita*, également utilisée en médecine humaine, serait sans doute plus appropriée pour décrire ces lésions chez l'espèce porcine.

Mots clés : *aplasia cutis congenita*; aplasie ectodermique congénitale; dysplasie; *epidermolysis bullosa*; épithéliogenèse imparfaite; *epitheliogenesis imperfecta*; peau; porc

Abstract

Cases of *epitheliogenesis imperfecta* are reported in several animal species and an autosomal recessive inheritance is most frequently suspected. The expression *epitheliogenesis imperfecta* has been used to describe two different pathologies, namely *epidermolysis bullosa* and *aplasia cutis congenita*, which are both grossly characterized by an absence of cutaneous or mucosal epithelium most frequently located on the distal limbs and oral cavity. *Epitheliogenesis imperfecta* has been described in swine, but the literature on the subject is scarce. In order to characterize more precisely this condition, 70 piglets with congenital cutaneous defects grossly compatible with *epitheliogenesis imperfecta* were examined. In all but one case, there was only one affected animal per litter. Sixty-five (93%) of the affected piglets were males, suggesting a sex-related defect. Over half of the animals presented multiple cutaneous lesions. All the cutaneous defects were located in the caudal half of the body and none were found in the oral cavity. Most lesions were characterized by an absence of the epidermis, part of the dermis and the adnexae. Cutaneous dysplasia was noted in several cutaneous lesions, associated or not with lesions of *epitheliogenesis imperfecta*, suggesting a faulty development of the skin. Congenital subcutaneous bullae were also noted macroscopically in 7 piglets; however, their relationship with *epitheliogenesis imperfecta* remains unknown. Since the expression *epitheliogenesis imperfecta* has been used in cases of *epidermolysis bullosa*, the

term *aplasia cutis congenita* would be more appropriate to describe such lesions in swine, as it is done in human medicine.

Key words: *aplasia cutis congenita*; congenital ectodermal aplasia; dysplasia; *epidermolysis bullosa*; *epitheliogenesis imperfecta*; skin; swine

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Liste des figures	ix
Remerciements	x
Introduction	1
Recension de littérature	3
1. Nomenclature : définition de l'<i>epitheliogenesis imperfecta</i>	3
2. Causes d'absence congénitale de peau	4
2.1 Destruction cutanée congénitale	4
2.2 Problème structurel héréditaire	5
2.3 Malformation : aplasie cutanée	14
3. L'<i>epitheliogenesis imperfecta</i> chez l'espèce porcine	21
Méthodologie	23
1. Animaux utilisés	23
2. Procédures diagnostiques	23
3. Suivi de l'évolution des lésions	24

<u>Article : Aplasia cutis congenita (epitheliogenesis imperfecta) in swine: observations from a large breeding herd</u>	25
Abstract	26
Key words	27
Introduction	28
Materials and methods	29
Results	31
Discussion	37
Acknowledgements	41
Sources and manufacturers	41
References	42
Figures	45
<u>Discussion</u>	<u>50</u>
<u>Conclusion</u>	<u>55</u>
<u>Sources documentaires</u>	<u>57</u>
<u>Annexe A</u>	<u>xi</u>

Liste des figures

- Figure 1.** Simple (a) and multiple (b) skin lesions of *epitheliogenesis imperfecta*, all located in the caudal half of the body. Lesions in newborns are moist and glistening (a). _____ **45**
- Figure 2.** The lesion focally extends deeper within the dermis. _____ **45**
- Figure 3.** Evolution of a lesion in an affected piglet at 3 (a), 10 (b) and 31 days (c) of age. _____ **46**
- Figure 4.** A lesion located in an area typical of *epitheliogenesis imperfecta* appears grossly hairy. _____ **46**
- Figure 5.** Congenital subcutaneous bullae were noted in some piglets; one was located under an *epitheliogenesis imperfecta* lesion (a) whereas others occurred near (b) or further apart (c) from such defects. _____ **47**
- Figure 6.** An infolding, filled with cellular and vegetal debris, is present at the junction between the normal and the affected skin. HEPS. _____ **47**
- Figure 7.** The epidermis and adnexae adjacent to the *epitheliogenesis imperfecta* lesion appear normal. HEPS. _____ **48**
- Figure 8.** The hair follicles at the margin of the *epitheliogenesis imperfecta* lesion are increased in number. HEPS. _____ **48**
- Figure 9.** Dysplastic changes at the edge of some *epitheliogenesis imperfecta* lesions had a variable appearance. In some lesions, haphazardly arranged hair follicles could be seen at the junction between normal and affected skin (a) while the skin formed a peculiar, ulcerated, raised plateau at the edge of other lesions (b). HEPS. _____ **49**
- Figure 10.** Two bullae are present in the subcutis. One bulla is surrounded by a thick fibrous capsule (right), whereas the capsule of the other one is fairly thin (left). HEPS. _____ **49**
- Figure 11.** Les différents constituants de la membrane basale. _____ **xiii**

Remerciements

Je tiens à remercier :

Dr Richard Drolet, directeur de recherche, et Dre Sylvie D'Allaire, codirectrice, pour m'avoir confié ce projet et soutenue dans sa réalisation.

Les employés de la ferme sélectionnée (Brigitte McDonald, Johanne LeFrançois, Sandra Thibodeau et Catherine L'Heureux) et le vétérinaire référant (Dre Julie Ménard) pour m'avoir soumis des porcelets affectés.

Mon père, ma mère et mon ami de cœur, pour m'avoir supportée tout au long de mes études.

Introduction

L'*aplasia cutis congenita* est un problème reconnu depuis assez longtemps en médecine humaine. Les premiers cas similaires en médecine vétérinaire semblent avoir été rapportés vers le début du siècle dernier, sous le nom d'*epitheliogenesis imperfecta*.

Chez l'espèce porcine, des cas d'*epitheliogenesis imperfecta* sont observés sporadiquement dans la plupart des élevages. Puisque les lésions cutanées de petite taille ont tendance à guérir sans complications subséquentes et que ce problème congénital ne se manifeste pas fréquemment, l'*epitheliogenesis imperfecta* a peu d'impacts économiques sur la production porcine. Ce problème a donc peu été étudié, la littérature sur ce sujet est très limitée et des conclusions ont été tirées à partir d'un très faible nombre d'observations. Certaines données semblent même avoir été extrapolées à partir d'observations notées chez d'autres espèces animales.

Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'*epitheliogenesis imperfecta* chez le porc seraient possiblement distinctes de celles décrites chez les autres espèces animales. L'étiopathogénie et le mode de transmission seraient aussi potentiellement différents. Dans le but de caractériser plus précisément cette entité chez l'espèce porcine, nous avons sélectionné un élevage porcin duquel nous avons obtenu des porcelets atteints d'*epitheliogenesis*

imperfecta. Nous voulions ainsi décrire l'apparence macroscopique et histologique des lésions cutanées, tenter d'en préciser l'origine et vérifier si ces défauts sont associés à d'autres anomalies congénitales.

Recension de littérature

1. Nomenclature : définition de l'*epitheliogenesis imperfecta*

Le terme *epitheliogenesis imperfecta* a été utilisé pour la première fois en médecine vétérinaire il y a plus de 75 ans. Hadley⁴⁰ décrivait alors des veaux nouveau-nés dont les extrémités des membres étaient dépourvues de peau. Il a nommé cette entité *epitheliogenesis imperfecta neonatorum*. Le terme *epitheliogenesis imperfecta* est encore utilisé en médecine vétérinaire de nos jours, et il décrit deux entités pathologiques différentes, soit l'*aplasia cutis congenita* et l'*epidermolysis bullosa*, dont l'apparence clinique est similaire.

En médecine humaine, le terme *epitheliogenesis imperfecta* n'est pas employé, et l'expression *aplasia cutis congenita* est plutôt utilisée pour décrire une absence congénitale de peau, localisée ou étendue.

Chez l'homme, l'*aplasia cutis congenita* se manifeste à divers endroits sur le corps, mais avec une beaucoup plus grande fréquence au niveau du cuir chevelu. Les défauts à cet endroit se présentent avec la même fréquence chez les enfants mâles et femelles. Ils ont tendance à se situer le long de la ligne médiane dorsale ou à être disposés de manière symétrique lorsque les défauts sont multiples.

2. Causes d'absence congénitale de peau

Les causes expliquant une absence de peau à la naissance sont variées. Quoiqu'une malformation soit possible, tout dépendant de l'espèce affectée, plusieurs autres causes doivent aussi être considérées. En effet, la peau peut s'être formée normalement mais avoir été détruite *in utero*. Elle peut aussi être affectée de problèmes structurels la fragilisant et favorisant son détachement *in utero*. Finalement, elle peut ne s'être jamais formée, il s'agit alors d'un cas d'épithéliogenèse imparfaite, ou plus précisément, d'aplasie cutanée.

2.1 Destruction cutanée congénitale

Plusieurs causes de destruction cutanée *in utero* sont suspectées ou connues en médecine humaine. Certains agents viraux, comme le virus herpès simplex type-2 et le virus herpès de la varicelle et du zona, pourraient détruire la peau du fœtus pendant la grossesse.³² Des médicaments tératogènes, comme le méthimazole,^{32,60,64} le misoprostol,²⁸ et l'acide valproïque,⁴³ peuvent également la détruire.

Plusieurs théories ont été avancées en médecine humaine pour expliquer la destruction cutanée. Certains croient qu'un trauma intrautérin pourrait être responsable de la formation de lésions cutanées. Ainsi, la peau nécroserait suite à un choc physique. La théorie vasculaire, quant à elle, a été élaborée suite à l'observation occasionnelle de lésions cutanées chez des nouveau-nés dont un

jumeau serait mort pendant la grossesse. Des changements hémodynamiques et le passage de substances thrombogènes seraient alors responsables de la nécrose cutanée.⁵² La théorie des forces biomécaniques pourrait entre autres expliquer certains défauts observés aux sites de rosettes sur la tête de certains nouveau-nés. En effet, un étirement excessif des fibres élastiques pourrait compromettre la vascularisation et entraîner une nécrose ischémique de la peau. Enfin, selon la théorie amniogénique, des adhérences entre la membrane amniotique et la peau fœtale seraient responsables de la destruction cutanée. Cette dernière théorie est beaucoup moins populaire que les précédentes, étant donné qu'une preuve de l'existence de telles adhérences n'est que rarement présente.^{22,32}

2.2 Problème structurel héréditaire

Plusieurs maladies, toutes héréditaires, peuvent fragiliser la peau et favoriser un décollement dermo-épidermique. La séparation se produira alors aux sites anatomiques où les mouvements (et donc les frictions) sont les plus importants, par exemple à l'extrémité des membres et au niveau de la muqueuse orale. Un frottement ou un pincement de la peau entraîne l'apparition de lésions (phénomène de Nikolski) typiques (décollement dermo-épidermique).²² L'une des maladies de ce type les plus répandues chez différentes espèces animales est l'*epidermolysis bullosa*. Il en existe trois grands types, soit *simplex*, *junctionalis* et *dystrophica*, décrits tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Ces types se différencient d'après le site de séparation dermo-épidermique, c'est-à-

dire selon l'endroit où le décollement se produit dans la membrane basale. Ce site peut-être déterminé grâce à la microscopie électronique et la cartographie immunoépitopique. La répartition dans l'épiderme des protéines impliquées détermine généralement le site de séparation (pour plus de détails, voir l'Annexe A);²⁵ ces protéines peuvent être détectées par immunohistochimie.¹⁰ Dans la littérature vétérinaire, ces maladies ont été rapportées à maintes reprises sous le vocable d'*epitheliogenesis imperfecta*.

Quoique plusieurs de ces maladies soient décrites à la fois chez les petits et les grands animaux, ce n'est que chez les grands animaux que les lésions cutanées sont présentes à la naissance. Chez les petits animaux, les lésions se développent plutôt dans les premières semaines suivant la naissance et ne sont donc pas aussi importantes dans le diagnostic différentiel d'absence cutanée congénitale.

2.2.1 Épidermolyse bulleuse simple

Cette forme d'épidermolyse bulleuse est caractérisée par une séparation au niveau des kératinocytes basaux de l'épiderme, adjacents à la lame basale; les kératinocytes basaux se séparent les uns des autres, une séparation dermo-épidermique suprabasale est alors observée. En microscopie optique, des vacuoles sont parfois visibles dans ces cellules. Elle est aussi parfois appelée épidermolyse bulleuse épidermolytique. Chez l'homme, la sévérité de la maladie dépend du site de mutation dans les gènes codant pour les kératines basales;^{33,56}

les gènes KRT5 et KRT14 sont les plus souvent impliqués.^{10,33,89} Ce défaut affecte environ 1/50000 nouveau-né humain, est généralement autosomique dominant et est classifié en plusieurs sous-types.²⁵ Une forme plus rare et récessive, associée à une dystrophie musculaire sévère, a été imputée à des mutations dans le gène codant pour la plectine.^{10,25} Cette dernière présentation de la maladie n'a toutefois pas été rapportée chez les animaux.

L'épidermolyse bulleuse simplex a été décrite chez des bovins de race Simmental où elle est aussi connue sous le nom d'épidermolyse bovine.⁸ On soupçonne que le problème soit autosomique dominant chez cette race. Cette maladie n'est pas nécessairement létale et la sévérité des lésions semble diminuer avec l'âge, tel qu'observé en médecine humaine. Les lésions en microscopie électronique sont caractérisées par la présence de cytolysse dans la couche basale de l'épiderme et une séparation dermo-épidermique suprabasale, typiques de l'épidermolyse bulleuse simplex. Un cas similaire a été rapporté chez un veau croisé Charolais x Limousin.¹

L'acantholyse familiale a été décrite chez des bovins de race Angus.⁴⁹ Elle serait due à une anomalie dans le développement des complexes desmosomes-tonofilaments, entraînant une perte de l'adhésion intercellulaire des cellules de la couche basale de l'épiderme. Il y a dégénérescence des cellules basales et des cellules épineuses. Celles-ci se séparent les unes des autres et se séparent parfois de la membrane basale. Les kératinocytes contiennent des inclusions

cytoplasmiques éosinophiliques qui se révèlent être des accumulations de tonofilaments lorsqu'examinées en microscopie électronique. Les desmosomes sont moins nombreux entre les cellules et l'espace intercellulaire est augmenté. Ce défaut serait probablement autosomique récessif chez cette race. Selon certains auteurs, cette maladie serait probablement en fait une manifestation d'épidermolyse bulleuse simplex. En effet, chez l'homme, de larges agrégats de tonofilaments sont également observables dans la forme de Dowling-Meara de l'épidermolyse bulleuse simplex, une forme sévère et généralisée de la maladie.^{13,33} Cependant, d'autres auteurs la pensent plutôt apparentée au pemphigus familial bénin, ou maladie de Hailey-Hailey, observée chez l'homme.^{34,49,97,98}

Quoique l'épidermolyse bulleuse simplex ait été rapportée chez le Collie,⁸⁷ les lésions se développaient alors plusieurs mois ou années après la naissance. Un cas similaire a également été décrit chez un Berger Shetland.⁸⁰ Toutefois, ces cas correspondraient vraisemblablement plutôt à des cas de dermatomyosite, maladie qui n'avait alors pas encore été décrite.

2.2.2 Épidermolyse bulleuse jonctionnelle

L'épidermolyse bulleuse jonctionnelle est caractérisée par une séparation au niveau de la *lamina lucida* de la membrane basale (voir Annexe A). Lorsqu'examinée en microscopie électronique, la *lamina densa* reste donc attachée au derme. En microscopie optique, la membrane basale, qui est positive

à la coloration PAS (periodic acid schiff), demeure attachée au derme. L'épidermolyse bulleuse jonctionnelle est due à des mutations dans différents gènes, causant entre autres des anomalies au niveau des hémidesmosomes. Il en existe quatre grandes formes, toutes autosomiques récessives chez l'homme.²⁵

La forme associée à une atrésie pylorique, due à une mutation de l'intégrine $\alpha 4$ ou $\beta 6$,^{10,74} n'est observée que chez l'homme.

La forme *inversa*, rare et dont la cause exacte est incertaine,²⁵ n'est pas non plus observée chez les animaux.

Il existe une forme atrophique, bénigne et généralisée, maladie autosomique récessive³⁶ chez les chiens Braque Allemand, dont l'expression du collagène XVII serait absente, possiblement des suites d'une mutation.^{37,74} Chez l'homme, des mutations se situant au niveau du gène codant pour l'antigène de la pemphigoïde bulleuse (BPAG2 ou collagène XVII) ont été démontrées.¹⁰ Des défauts dans l'expression des chaînes $\gamma 2$ ou $\alpha 3$ de la laminine-5 auraient également été détectés chez certains chiots, de même qu'une mutation dans la chaîne $\alpha 3$.⁸⁹ Les lésions cutanées ne sont toutefois pas présentes à la naissance des chiots. Un chien de race croisée a développé des lésions compatibles avec une forme non-létale d'épidermolyse bulleuse jonctionnelle. Quoique la morphologie des hémidesmosomes ne soit pas toujours affectée dans cette forme de la maladie, les hémidesmosomes de cet animal étaient hypoplasiques et

n'avaient pas de plaque sous-basale. Bien que ce cas aurait pu correspondre à une forme atrophique bénigne et généralisée, l'expression du BPAG2 était normale chez cet animal.⁶⁸

La quatrième forme d'épidermolyse bulleuse jonctionnelle est la forme de Herlitz. Elle est la forme la mieux décrite et la plus sévère chez les animaux domestiques. Elle est due, chez l'homme, à une mutation dans la chaîne $\alpha 3$, $\beta 3$ ou $\gamma 2$ de la laminine-5. La morphologie des hémidesmosomes est alors systématiquement affectée lors d'examen en microscopie électronique. Ces derniers sont plus petits, moins nombreux et de structure anormale : ils paraissent sous-développés et la plaque sous-basale est parfois absente.

Cette maladie a été bien décrite chez plusieurs races de chevaux, dont le Belge,^{30,48,53,89} l'American Saddlebred,^{57,58,91} le Comtois,^{31,63} le Breton,⁶³ et le Selle-Français.¹⁷ Des ulcères et parfois des bulles sont observés en période néonatale sur la peau du dos, de la croupe, de l'extrémité distale des membres, de même qu'au niveau des muqueuses orale, vaginale et anale. Les incisives et les prémolaires sont visibles dès la naissance et leur émail est fréquemment anormal.^{58,91} Il se produit occasionnellement une séparation des sabots à la bande coronaire. Des lésions cornéennes sont également rapportées.⁴⁸ Cette maladie est autosomique récessive et les hémidesmosomes examinés paraissent fréquemment anormaux.^{48,58} Un défaut dans l'expression de la laminine-5 a été observé chez les chevaux Belge⁹⁰, Comtois et Breton.⁶³ Chez ces deux dernières

rares, une mutation dans la chaîne $\gamma 2$, à savoir l'insertion d'une cytosine dans le gène LAMC2, entraînant un changement du cadre de lecture et la formation prématurée d'un codon stop, a même été détectée.^{63,89} Une étude chez une population de 150 chevaux Belge du Canada et des États-Unis a confirmé la transmission mendélienne autosomique récessive et a révélé que 48% des animaux évalués étaient porteurs asymptomatiques de la mutation.⁸⁹ Chez le Saddlebred Américain, le défaut a été situé au niveau du chromosome 8q et une mutation dans le gène LAMA3 serait plutôt suspectée.⁵⁷

La maladie a également été décrite chez des souris, chez qui elle s'était développée spontanément suite à une mutation dans le gène codant pour la laminine-5⁵⁴ ou des suites d'un *knock-out* des gènes codant pour la laminine-5⁸¹ et les intégrines $\alpha 6$, $\beta 4$ et $\alpha 3$. Ces souris ont permis d'étudier la fonction de ces différents gènes. La mortalité très rapide des sujets affectés empêche toutefois leur utilisation dans la recherche de traitements pour l'homme. Un cas d'épidermolyse bulleuse jonctionnelle sévère, létale et généralisée a également été rapportée chez des rats Sprague-Dawley;¹² la description correspondrait vraisemblablement à la forme de Herlitz de cette maladie. Un cas a été décrit chez un Caniche Toy.²⁴ Les lésions, qui n'étaient pas présentes à la naissance de l'animal, se sont développées dans les heures qui ont suivi. Quoiqu'un cas ait été rapporté chez un veau Galloway, le manque de description histologique ne permet pas de confirmer le diagnostic.²¹ Des autruches ont développé des lésions d'épidermolyse bulleuse jonctionnelle; ces lésions n'étaient toutefois pas

présentes au moment de l'éclosion, mais se sont plutôt développées vers l'âge de 4 jours.⁷⁸ Des cas sont également rapportés chez des chiens Beauceron, mais il s'agirait vraisemblablement de cas de dermatomyosite.^{29,35}

2.2.3 Épidermolyse bulleuse dystrophique

Elle est caractérisée par une séparation au sein même ou sous la *lamina densa*; la *lamina lucida* reste donc attachée à l'épiderme lorsqu'examinée en microscopie électronique (voir Annexe A). Aussi appelée épidermolyse bulleuse collagénolytique ou dermolytique, sa transmission est autosomique dominante ou récessive. Les lésions sont généralement moins sévères chez les individus atteints de la forme dominante. L'épidermolyse bulleuse dystrophique récessive se divise en plusieurs sous-types.^{25,74} Plusieurs cas n'ont toutefois pas été classifiés chez les animaux. Chez l'homme,⁸⁹ comme chez plusieurs autres espèces, elle est due à une mutation du gène codant pour le collagène VII, entraînant une absence de son expression. Cela a pour effet une absence de formation de fibrilles d'ancrage ou encore la formation de fibrilles défectueuses; celles-ci paraissent alors parfois rudimentaires et filamenteuses lorsqu'examinées en microscopie électronique.

Cette maladie a été décrite chez plusieurs races de moutons dont le Suffolk, le South Dorset Down, le Scottish Black Face, le Swiss White Alpine (Weisses Alpenschaf), le Welsh Mountain et plusieurs moutons croisés Border Leicester, Blue-faced Leicester et Swaledale.^{3,20,26,62} Cette maladie récessive²⁶ et

létale est nommée *red foot disease of lambs*. Elle a déjà été rapportée sous le nom d'*epitheliogenesis imperfecta* chez des moutons croisés Merino et Romney Marsh,⁶⁷ chez qui les lésions correspondraient également à celles du *red foot*. Des lésions sont souvent présentes dès la naissance au niveau de la muqueuse buccale et plus rarement sur la peau des membres, alors que d'autres se développent à l'intérieur du pavillon des oreilles, au niveau des cornes et parfois sur le museau et les bandes coronaires. Les lésions les plus sévères, habituellement observées à l'extrémité des membres, ne se développent toutefois souvent qu'un ou deux jours après la naissance. Au cours de l'évolution de la maladie, il se produit un détachement complet des onglons, le chorion alors exposé est rouge et sanglant, d'où le nom de *red foot*. Des lésions cornéennes sont aussi rapportées.^{20,26,62} Lorsqu'observée en microscopie optique avec la coloration PAS, la séparation se produit sous la membrane basale (qui est positive au PAS).³ En microscopie électronique, la séparation se situe sous la *lamina densa*.²⁶ Une absence d'expression du collagène VII a été confirmée chez le Swiss White Alpine.²⁶

L'épidermolyse bulleuse dystrophique a été décrite chez plusieurs races de chiens. Chez le Golden Retriever, quoique des lésions puissent se retrouver dès la naissance au niveau de la muqueuse orale, les lésions se développent surtout dans les jours et les semaines qui suivent. La maladie est légère chez ces animaux, chez qui les lésions cutanées cessent de se former vers l'âge de huit mois; les lésions persistent toutefois au niveau du tractus digestif supérieur.⁷⁶ Un

cas léger a été décrit chez un Akita Inu qui présentait des ulcères aux points de pression et des griffes dystrophiques. Les lésions n'ont toutefois été rapportées qu'à partir de l'âge d'un an et étaient caractérisées par une alternance de périodes d'exacerbations et de rémissions. Ce cas serait possiblement compatible avec une forme dominante d'épidermolyse bulleuse dystrophique.⁶⁹

Des mutations ont été générées dans le gène COL7A1 chez des souris afin de s'en servir comme modèles d'épidermolyse bulleuse dystrophique; celles-ci sont toutefois difficilement utilisables dans l'étude d'avenues thérapeutiques étant donnée leur mortalité très rapide.⁴²

Un cas a également été rapporté chez des bovins de race Brangus.⁹² Quoiqu'elle ait été décrite chez des chats domestiques^{72,96} et Persan,⁷⁴ de même que chez des autruches, les lésions chez ces espèces étaient absentes à la naissance, et se sont plutôt développées dans les jours, semaines ou mois suivant la naissance.

2.3 Malformation : aplasie cutanée

Une autre cause potentielle d'absence congénitale de peau serait la conséquence d'une malformation de celle-ci. Il s'agit souvent d'un diagnostic d'exclusion et en médecine vétérinaire les termes *epitheliogenesis imperfecta* ou plus précisément *aplasia cutis congenita* (aplasie ectodermique congénitale) ont été utilisés pour décrire cette entité. En médecine humaine, l'*aplasia cutis*

congenita peut être la seule anomalie notée chez un nouveau-né, ou encore faire partie d'un syndrome plus complexe.⁹⁴ Elle est parfois associée à une trisomie ou à d'autres problèmes génétiques.³² Elle peut se produire suite à un problème de formation ou de différenciation de l'ectoderme embryonnaire, ou encore suite à un problème de fermeture du tube neural. Dans ce dernier cas, les lésions se situeront habituellement le long de la ligne médiane dorsale et des défauts neuraux sous-jacents peuvent parfois être présents. Chez l'homme et la souris, les problèmes de fermeture du tube neural, surtout les cas d'anencéphalie et d'exencéphalie, sont plus fréquemment observés chez les nouveau-nés femelles.^{51,82} Il semblerait que le chromosome sexuel ait un effet direct sur l'élévation du repli neural. Certains auteurs suggèrent que la présence d'un chromosome X inactivé et fortement méthylé dans toutes les cellules femelles rendrait la méthylation moins disponible pour les autres besoins des cellules femelles, dont l'élévation du repli neural.⁵¹

La présence d'un anneau de cheveux anormalement gros et denses a été notée au pourtour de défauts sur le cuir chevelu d'enfants nouveau-nés. Cette manifestation, nommée « hair collar sign » est considérée comme un marqueur relativement spécifique de défaut de fermeture du segment crânial du tube neural. Le défaut osseux du crâne peut toutefois s'être refermé et ne plus être observable à la naissance. Il est suggéré que la proximité de l'ectoderme neural, exprimant certaines molécules d'adhésion, altérerait les interactions dermo-épidermiques normales et induirait la formation de gros follicules anormaux.²³ La présence

d'une petite touffe de poil peut également être observée au-dessus du défaut neural dans les cas de *spina bifida occulta*,⁸² ce qui semble confirmer l'influence de l'ectoderme neural sur le développement folliculaire.

L'épiderme provient de l'ectoderme de surface. Quant au derme, selon certains auteurs, il proviendrait du mésoderme,^{38,83} alors que selon d'autres, il serait formé d'un mésenchyme provenant en partie de la crête neurale (ectoderme) et en partie des dermatomes du mésoderme.⁵ L'épiderme est séparé des autres parties de l'ectoderme (plaque neurale, crête neurale) pendant le processus de neurulation.⁵ Les follicules et les glandes sébacées et sudoripares se forment suite à la prolifération de cellules épidermiques dans le derme.^{38,83} Les mélanocytes donnant la pigmentation à la peau proviennent de la crête neurale.⁸³

En médecine humaine l'*aplasia cutis congenita* est caractérisée histologiquement par une absence localisée d'épiderme et d'une partie du derme, accompagnée par une fibrose du derme sous-jacent et une absence d'annexes cutanées. Le défaut peut aussi s'étendre plus en profondeur et affecter les muscles, les os et, lorsque le défaut se situe sur la tête, la dure-mère. Ce défaut peut guérir *in utero*, la lésion présente alors une fibrose caractéristique de toute cicatrice, de même qu'une absence de fibres élastiques et d'annexes cutanées.^{52,59}

La peau est un organe essentiel dans la protection contre les agents physiques, chimiques et infectieux; elle contribue également au maintien de l'équilibre électrolytique. Dans les cas d'aplasie cutanée congénitale, tout comme dans les cas sévères d'épidermolyse bulleuse chez différentes espèces, l'absence de cette barrière contre les bactéries favorise leur entrée dans la circulation sanguine et peut entraîner la mort de l'animal suite à une septicémie.^{41,101} Chez les nouveau-nés affectés, les infections sont une des principales causes de mortalité dans les jours suivant la naissance. Certains meurent aussi des suites d'autres complications, particulièrement lorsqu'un problème de fermeture du tube neural est impliqué.²² La mort peut également se produire suite à la perte de grandes quantités de sérum par ces lésions, qui amène une déshydratation et des déséquilibres électrolytiques,¹⁰⁰ tels que rencontrés chez les grands brûlés. Si les lésions ne sont pas trop étendues, elles peuvent toutefois guérir par cicatrisation.^{41,101}

Des lésions pouvant correspondre à des cas d'aplasie cutanée congénitale ont été rapportées chez différentes espèces animales, dont le chien.³⁹ Les régions affectées dans ce dernier cas étaient toutefois recouvertes d'une à trois couches de kératinocytes, mais les annexes cutanées étaient absentes sous les lésions. Dans un rapport de cas chez le puma, les deux animaux affectés résultaient de cinq générations d'accouplement consanguin et des anomalies étaient également présentes au niveau du système reproducteur.⁴ Des souris sont parfois affectées

et elles sont utilisées pour l'étude de la fermeture du tube neural, quoique ce phénomène se produise différemment chez chaque espèce.

Des cas sont également rapportés chez diverses autres espèces. Cependant, comme le suggèrent Alley et al.,³ il est souvent difficile de déterminer si certains de ces cas ne seraient pas des exemples d'épidermolyse bulleuse. En effet, les descriptions sont souvent très brèves et n'incluent pas d'examens en microscopie électronique.

Dans les premiers cas d'*epitheliogenesis imperfecta* rapportés chez des bovins, en plus des défauts cutanés présents à l'extrémité des membres, des lésions étaient présentes dans la muqueuse buccale, et les oreilles et les onglons étaient malformés.⁴⁰ Ce problème serait autosomique récessif et a fréquemment été rapporté chez des Holstein au Canada,⁵⁵ aux États-Unis⁴⁰ et en Hollande.⁴⁵ Des Friesian australiens, Dutch Black Pied, Simmental, Swedish Red Pied, Jersey,^{79,99} Suisse Brune,¹⁰⁰ Ayrshire,⁴⁶ Shorthorn et Angus⁴⁷ et même un *Bos indicus* Sahiwal¹⁰¹ auraient également développé des lésions similaires. Certains bovins de race Jersey ou Angus présentaient diverses lésions congénitales concomitantes telles une brachygnathie inférieure et une atrésie anale. Les lésions impliquent parfois la quasi-totalité de la surface corporelle et sont accompagnées de diverses autres anomalies : les onglons ne sont pas complètement séparés et sont dépourvus de corne, les oreilles sont difformes et fusionnées à la peau occipitale, les lèvres sont fusionnées aux gencives et les paupières sont

fusionnées à la sclère des yeux.¹⁰¹ Des cas ont également été rapportés chez deux bovins Holstein croisés et un bovin natif de l'Iran ; l'un d'eux présentait, en plus des lésions cutanées, une malocclusion et une maléruption des dents incisives.¹⁹ Dans un cas d'épithéliogenèse imparfaite chez un bovin dont la race n'a pas été spécifiée, une production anormalement basse de collagène a été démontrée,³¹ telle que rencontrée dans certains cas d'épidermolyse bulleuse. Les auteurs observaient aussi une ressemblance des lésions histologiques avec les lésions d'épidermolyse bulleuse.

Chez les moutons Awassi,² les lésions se retrouvaient en partie distale des membres, sous les carpes et les tarse, de même qu'au niveau du pavillon des oreilles et sur le nez. Certaines dents étaient difformes et une brachygnathie inférieure était parfois présente. Les lésions histologiques étaient caractérisées par une absence de toutes les couches de la peau et des annexes.

Dans un cas rapporté chez des chatons Siamois, les lésions se présentaient alors sous forme d'ulcères linéaires sur la langue des chatons que l'auteur décrivait comme semblables à ceux retrouvés chez les moutons atteints de *red foot*.⁶⁷

Des buffles Murrah⁹⁵ auraient également présenté des lésions compatibles avec l'épithéliogenèse imparfaite.

Chez les chevaux, les lésions se situent surtout au niveau des extrémités distales et le problème est autosomique récessif.⁹⁰ Des lésions sont également décrites au niveau de la muqueuse buccale¹⁸ de même que de l'œsophage.¹⁰⁰ Un cas a été rapporté chez un Quarter Horse.¹⁰⁰ Plusieurs autres ont été documentés chez des chevaux de traits en Allemagne. Le problème affectait la peau des membres et les sabots et semblait être autosomique récessif.¹⁵ La majorité de ces caractéristiques sont identiques à celles observées dans les cas d'épidermolyse bulleuse, rendant leur différenciation difficile. Les cas réels d'aplasie cutanée congénitale seraient toutefois rares chez cette espèce.⁸⁶

Chez l'être humain, les malformations cutanées peuvent être dues à une malformation se limitant à l'ectoderme donnant naissance à la peau ou impliquant le neurectoderme. Dans ce dernier cas, il s'agit le plus souvent de défauts dans la fermeture du tube neural. Ce type de problème est héréditaire chez l'homme, mais ne semble pas être autosomique simple et affecte plus souvent les femmes.⁵¹ Les lésions cutanées se retrouvent alors le long de la ligne médiane dorsale et des défauts neuraux sous-jacents sont fréquemment présents. Des souris ont été utilisées afin de déterminer les divers gènes impliqués dans la fermeture du tube neural. Quoique certains sites initiaux de fermeture semblent varier d'une espèce à l'autre, les problèmes de fermeture du tube neural se manifestent de façon semblable chez la souris et l'homme.⁵¹

3. L'*epitheliogenesis imperfecta* chez l'espèce porcine

L'*epitheliogenesis imperfecta* est rapportée chez les porcs de différentes races.^{16,48} Les défauts sont observés au niveau de la peau du tronc, du dos et des membres.^{9,48,71,77,93,101} Certains auteurs rapportent des défauts épithéliaux similaires affectant l'extrémité de la langue de même que des lésions concomitantes d'hydronéphrose et d'hydrouretère.^{44,50,66}

Le problème serait possiblement autosomique récessif.^{16,44,50,70,93} Un seul auteur suggère la possibilité d'une condition récessive liée au sexe ; ce dernier a observé 6 animaux affectés provenant de 4 portées distinctes, et ces sujets étaient tous des mâles.⁹ Le sexe des animaux affectés n'est mentionné que dans un autre rapport de cas, où le sexe de seulement 2 animaux sur 7 est précisé (2 mâles).⁷⁷ Quoique les lésions affectent le plus souvent un seul animal de la portée, plusieurs porcelets étaient atteints dans certains cas.^{77,84,93}

Les lésions histologiques consistent en une absence focale d'épiderme et des annexes cutanées. Certains auteurs ajoutent que le derme est parfois aminci, contient d'occasionnelles glandes sudoripares rudimentaires et les lésions sont parfois entourées d'un repli cutané contenant de nombreux et petits follicules pileux.⁷⁷ Les poils situés en bordure des lésions pointent parfois vers le centre de la lésion plutôt que de suivre leur orientation normale, c'est-à-dire vers l'arrière et le bas de l'animal.⁷¹

Quoique peu se soient aventurés à expliquer l'origine des lésions, la possibilité d'une migration et formation anormales des tissus (défaut ectodermique embryonnaire) a été suggérée.^{71,77} Dans deux rapports de cas, des porcelets nouveau-nés présentaient des défauts cutanés sur le front, la lèvre supérieure, les joues, le groin, les tarse et les carpes; certains animaux développaient également une nécrose des oreilles et de la queue quelques heures après leur naissance. Ces lésions ont été associées à la présence de toxine T-2 de *Fusarium* et possiblement d'ergot.^{6,7}

Certaines lésions guérissent par cicatrisation, alors que d'autres entraînent la mort de l'animal, généralement suite à une septicémie.^{16,93,100}

La documentation est plutôt restreinte chez l'espèce porcine. Certaines observations ponctuelles semblent avoir été généralisées et une partie des informations disponibles paraissent avoir été extrapolées des lésions observées chez les autres espèces, possiblement même de cas d'épidermolyse bulleuse.

Quoique des conditions se manifestant par une séparation dermo-épidermique soient rapportées chez le porc,⁶⁵ les lésions n'étaient jamais présentes à la naissance et consisteraient en une manifestation de pemphigoïde bulleuse.^{73,75} Cette maladie est due à la présence d'anticorps contre des antigènes de la membrane basale de la peau, particulièrement le collagène XVII.

Méthodologie

1. Animaux utilisés

Un total de 70 porcelets présentant des lésions cutanées congénitales macroscopiquement compatibles avec de l'*epitheliogenesis imperfecta*, âgés de quelques heures à 13 jours, a été obtenu sur une période de 3 ½ ans. Tous provenaient d'une seule ferme de 1500 truies. L'insémination artificielle, utilisant la semence de un à trois verrats, y était pratiquée. Cette ferme a été choisie sur la base de sa proximité avec le laboratoire de diagnostic, sa grande taille et l'excellente collaboration de ses employés. La date de naissance et le sexe des animaux affectés ont été notés, de même que l'identification des parents, la parité des truies, et le nombre d'animaux affectés par portée.

2. Procédures diagnostiques

Une nécropsie complète a été effectuée sur 68 des porcelets. Les lésions cutanées ont été photographiées et mesurées sur chacun de ces animaux. Toute autre anomalie présente chez chaque animal a été notée. Des spécimens de peau ont été conservés dans du formol 10% tamponné. De une à quatre sections par lésion ont été réalisées; elles ont été coupées à 3 µm et colorées à l'hématoxiline-éosine-phloxine-safran (HEPS). Les lésions ont été examinées au microscope optique et les différents changements ont été répertoriés.

Des colorations immunohistochimiques pour la cytokératine et le vimentin ont été réalisées sur des lésions sous-cutanées kystiques chez 6 porcelets et sur des kystes sudoripares chez 3 animaux.

Des échantillons de foie, de rein et de poumon provenant de 5 animaux faibles et présentant des lésions cutanées extensives ont été soumis pour bactériologie. Chez 6 animaux, le liquide contenu dans les bulles sous-cutanées a été soumis pour cytologie et analyse biochimique partielle. Ce liquide a également été soumis pour bactériologie dans 2 cas.

3. Suivi de l'évolution des lésions


Un animal n'a pas été euthanasié, mais a plutôt été observé sur une période d'un mois afin d'évaluer l'évolution des lésions. Cet animal a été examiné à 3, 10 et 31 jours.

Article

Aplasia cutis congenita (epitheliogenesis imperfecta) in swine: observations from a large breeding herd

Marie-Odile Benoit-Biancamano, Richard Drolet, Sylvie D'Allaire

From the Department of Pathology and Microbiology (Benoit-Biancamano, Drolet) and the Department of Clinical Sciences (D'Allaire), Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada.

Corresponding Author: Marie-Odile Benoit-Biancamano, Department of Pathology and Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada ; 

Abstract

Epitheliogenesis imperfecta has been reported in several animal species and its inheritance is suspected to be autosomal recessive. This term has been used to describe 2 different diseases, namely *epidermolysis bullosa* and *aplasia cutis congenita*, which are both grossly characterized by an absence of epidermis or mucosal epithelium most frequently reported on the distal limbs and oral cavity. *Epitheliogenesis imperfecta* has been described in swine, but the literature on the subject is scarce. To better characterize this condition, 70 piglets with congenital skin defects macroscopically compatible with *epitheliogenesis imperfecta* were examined. In all but one case, only one animal per litter was affected. Sixty-five (93%) of the affected animals were male, suggesting a sex-related problem. Over half of the piglets had multiple skin lesions. All defects were located on the caudal half of the body, and none was found in the oral cavity. Most lesions were characterized by an absence of epidermis, part of the dermis and adnexae. Skin dysplasia was also observed in several defects, concomitantly or not with *epitheliogenesis imperfecta* lesions, suggesting a developmental problem. Fluid-filled, congenital subcutaneous bullae were noted grossly on 7 piglets; their relationship, if any, with *epitheliogenesis imperfecta* remains unknown. As the term *epitheliogenesis imperfecta* has been used in cases of *epidermolysis bullosa*, the term *aplasia cutis congenita* seems to be more appropriate to describe these lesions in swine, as it is done in human medicine.

Key words

aplasia cutis congenita; dysplasia; epitheliogenesis imperfecta; skin; swine

Introduction

Epitheliogenesis imperfecta has been reported in several domestic and wild animal species.^{1,7,9} It refers to a condition in which areas on the body are devoid of skin at the time of birth. In veterinary medicine, the term *epitheliogenesis imperfecta* has been used to describe 2 different conditions with a similar clinical presentation, namely *epidermolysis bullosa* and *aplasia cutis congenita*.^{4,11,12,18-20}

In swine, *epitheliogenesis imperfecta* represents a sporadic congenital defect that occurs on many farms. Lesions have been described mainly on the trunk, but also on the distal limbs.^{3,9,15,16,19,22,24} Some authors also reported similar epithelial defects in the oral cavity as well as frequent concomitant hydronephrosis and hydroureter.^{8,9,13} This condition has been described in white and colored breeds.^{4,19} Although one author mentioned that it may represent a sex-linked defect³, a simple, autosomal recessive transmission is more widely suggested.^{4,8,9,14,18,22}

Detailed descriptions of this disease in pigs in the contemporary literature are lacking and some of the reported characteristics seem to have been extrapolated from other species. The aim of the present study was to describe more accurately this congenital condition in swine based on observations in a large breeding herd.

Materials and methods

Animals. A total of 70 piglets with gross lesions compatible with *epitheliogenesis imperfecta* were included in this study. They originated from a 1500-sow commercial breeding herd over a period of 3.5 years. This herd was selected because of its relatively large inventory, its proximity to the diagnostic laboratory and the historical collaboration of its staff. Data on the date of birth and the sex of the affected piglets as well as the number of affected animals per litter were collected. The parity of the dam and the identification of the sow and boars that had produced affected piglets were also obtained. Sows were artificially inseminated using semen from 1 to 3 boars.

Diagnostic procedures. All but 2 piglets were euthanized and a complete necropsy was performed on 68 animals. The skin defects were photographed and measured and concomitant abnormalities were noted. Samples of skin were fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, and 1 to 4 sections per lesion were cut at 3 μm and stained with hematoxylin-eosin-phloxine-saffron (HEPS) for routine light microscopic examination. Immunohistochemistry for cytokeratin^a and vimentin^b was performed on subcutaneous bullae (6 animals) as well as on sudoriparous cysts (3 animals). Samples of liver, lung and kidney from 5 weak animals with extensive cutaneous lesions were submitted for routine bacteriology. Liquid contents from 6 cases of subcutaneous bullae were submitted for cytology and biochemistry and 2 were also sent for routine bacterial culture.

Follow-up. One animal that was not euthanized was observed for a month to assess the evolution of the skin lesions. Pictures were taken at 3, 10 and 31 days of age.

Results

Clinical findings. All the affected piglets were born with the skin defect. The age of the piglets at the time of necropsy ranged between a few hours up to 13 days, with more than 70% being younger than 2 days old. Most of these piglets were bright and alert with the exception of 5 very weak animals that had extensive cutaneous lesions. Two of these latter animals had an *Escherichia coli* septicemia whereas 2 others had an empty stomach.

Of the 70 affected piglets, 65 (93%) were males. The parity of the dams that had produced affected piglets, ranged from 1 to 13; there was no relationship between the parity and the frequency of *epitheliogenesis imperfecta* in piglets. Although most sows were involved only once in our study, 3 had affected piglets on two distinct farrowings. Among the latter, one sow had a litter with two affected piglets, which represented the only case with more than one affected piglet within a litter. Sixty different sires were involved in the affected litters. Homospermic artificial insemination was used in 17 litters only and among these, 14 different boars were used.

Gross pathology. Of the 70 piglets, 33 had a single skin defect whereas 37 had multiple skin lesions, with up to 7 lesions present on the same animal. Lesions were always located in the caudal half of the body, namely on the back, thighs and abdomen (Figure 1). None were seen on the distal limbs.

In newborns, the lesions were bright red, glistening and depressed. Within a few hours, they became covered with reddish to brownish crusts, especially when pigs were over a day old. Scarring was most evident in week-old pigs. Most lesions appeared as clear-cut, punched-out areas devoid of skin and hair, and varying in size and shape. The depth of the skin defects was also variable even within a single lesion (Figure 2).

In the single piglet observed over a period of time, progressive scarring and reduction in size of the lesion were noted, with almost complete resolution after one month (Figure 3).

At the periphery of some lesions, the dermal connective tissue was dissected by a small cleft that sometimes contained debris. Although most of these infoldings measured only a few millimeters in length, some were quite extensive, covering up to 2 x 3 cm. All were in continuity with the skin defects.

A collarette of abnormally-oriented hair, occasionally forming whorls, was found in the skin surrounding some defects. In a few cases, a narrow band of normal-appearing skin separated two adjacent lesions (Figure 1b). Two piglets (one male and one female) had a single cutaneous lesion that appeared grossly as an area devoid of epidermis but that was still covered with hair (Figure 4).

Among other gross lesions, peculiar subcutaneous bullae measuring up to 7 cm in diameter were observed in 7 newborn piglets. Some of these bullae were near or partially underneath *epitheliogenesis imperfecta* lesions whereas others were not closely associated with them (Figure 5). The bullae were located in the subcutis and their content was fluid, translucent and yellowish or pinkish (blood-tinged). Cytologic and biochemical analyses of the fluid revealed that only one of the bullae was compatible with a seroma, and the others were neither compatible with lymph or seroma due to low triglyceride and protein contents. Most presented a mild, chronic inflammatory infiltrate. Bacterial culture was negative in the 2 samples of fluid submitted for bacteriology.

Markedly dilated sweat glands (sudoriparous cysts) were noted in 7 animals, mainly on the abdomen, often in the vicinity of lesions of *epitheliogenesis imperfecta*. Most measured 1 to 5 mm, but 2 were 1.5 cm in diameter.

A localized thinning of the abdominal wall, characterized by a focal absence of abdominal muscle (abdominal pseudohernia), was present in 3 animals. Three cases of unilateral hydronephrosis and hydroureter were observed among the examined piglets.

No defects on the tongue, esophagus, cornea, anus or vulva were observed in any of the examined animals.

Histopathology. Most of the cutaneous lesions observed grossly and considered compatible with *epitheliogenesis imperfecta* were characterized by an absence of the epidermis and superficial to mid-dermis. The adnexae were absent from the lesions in most animals. Occasional to rare hair follicles and apocrine glands were scattered in the dermis underlying the defects in a few animals; some of these hair follicles appeared abnormally shaped and oriented.

Various findings were noted at the junction between the normal and affected skin. In 43 animals, the epidermis and superficial to mid-dermis surrounding parts of the lesions were multifocally detached from the underlying tissue, forming an infolding, that often contained cellular and vegetal debris and inflammatory cells (Figure 6). The appearance of hair follicles at the junction between the normal skin and lesion was variable and 3 groups of approximately equal size could be defined. In the first group, the adnexae at the edge of the lesions appeared normal (Figure 7). In the second group, the hair follicles surrounding the lesions were multifocally increased in number and/or in size (Figure 8). In the last group, evidence of dysplasia was found at the junction between the skin defects and the unaffected skin. These dysplastic lesions were characterized by the presence of abnormally shaped and variably sized hair follicles, that also presented an abnormal orientation. The overlying skin was sometimes elevated and forming a raised plateau, and was often eroded and covered with a serocellular crust (Figure 9).

In 14 of the 68 necropsied piglets, some of the lesions grossly resembling *epitheliogenesis imperfecta* were in fact solely dysplastic and were histologically similar to the dysplastic margins described above. Most of these animals presented at the same time some lesions that were typical of *epitheliogenesis imperfecta*; however, in 2 animals (1 male and 1 female) (Figure 4), dysplastic lesions were the only defect observed on microscopic examination.

In newborn piglets, inflammation was absent to minimal in the lesions; the surface blood vessels were congested and mild hemorrhages were often present in the exposed dermis. The superficial part of these lesions was infiltrated by non degenerate neutrophils in piglets a few hours old. In 1 day old piglets, the defect was covered with a serocellular crust composed of serum, fibrin, degenerate neutrophils and often, vegetal debris. The exposed dermis was infiltrated with neutrophils and macrophages. Mild epidermal hyperplasia, increasing in intensity with age of the piglet, was often present at the periphery of the defect. By day 3, an abundant, inflamed fibrovascular tissue (granulation tissue) was present in the crust-covered, exposed dermis. This tissue eventually evolved into an abundant, mature and dense collagen, partially covered by an often hyperplastic epidermis.

The congenital bullae observed in 7 animals were located in the subcutis and surrounded by a fibrous capsule of variable thickness (Figure 10). They were lined by vimentin positive and cytokeratin negative flattened cells. In 2 other

piglets, similar histologic lesions were noted (subcutaneous clefts surrounded by a capsule of variable thickness) although no gross liquid-filled bullae were observed.

The sudoriparous cysts, located in the mid to deep dermis of 7 piglets, were lined by cuboidal to flattened or sometimes polygonal cells. While the epithelium was 1 cell thick in most cases, a few were lined by 2 to 4 layers of cells, sometimes resembling a stratified squamous epithelium. The lining cells were diffusely cytokeratin positive and vimentin negative.

Discussion

The low incidence of this defect within a litter would be compatible with an autosomal recessive problem. However, with this type of inheritance, a roughly equal proportion of males and females would be expected. The high ratio of affected males to females in this study rather suggests a sex-related defect, whether sex-linked (X-linked) or not. Since up to 3 sires were used per insemination, it was not possible with the small dataset to relate this congenital skin defect to particular boars. A non-heritable congenital defect would also be compatible with a low incidence within a litter and within a herd. The frequency of some non-heritable defects can also be higher for males or females when the risk is modified by gender, as is seen with neural tube closure defects in humans, for which females appear predisposed.^{10,21} Since the study was carried in only one herd and the environmental conditions and genetic background vary between farms, the frequency and inheritance of this problem could be different in other herds. However, a higher prevalence of the lesions in male piglets was reported in one other study, in which all affected animals were male.³ Sows of all parities gave birth to affected piglets, which precludes an age-related problem in the dam.

Cases of *epidermolysis bullosa* have long been described under the name of *epitheliogenesis imperfecta*. In *epidermolysis bullosa*, the ulcerated sites are those which are more prone to mechanical damage, namely the mouth and distal extremities. At the microscopic level, dermo-epidermal clefts can often be observed at the margins of the lesions and the adnexae are usually present within

the lesions. In this study, the sites and the microscopic lesions were not compatible with *epidermolysis bullosa*. Indeed, dermo-epidermal clefts were not observed and the cutaneous defects extended to the superficial to mid-dermis and were all located in the caudal half of the body.

Etymologically, *epitheliogenesis imperfecta* refers to a faulty epithelial formation, which would almost adequately describe the lesions observed in piglets from this study, except for the involvement of the dermis. Since the term *epitheliogenesis imperfecta* in veterinary medicine also encompasses *epidermolysis bullosa*, it would appear more appropriate to use the term *aplasia cutis congenita* to describe lesions like the ones observed in piglets of this study. This term refers to a partial absence of the skin, which therefore includes the dermis. *Aplasia cutis congenita* is used in human medicine to describe lesions similar to those observed in these piglets. In humans, such defects can be observed on the scalp as well as on other sites on the body. Hair whorls are sometimes seen around lesions found on the scalp, and these are considered characteristic of neuroectodermal defects.⁵ The only weakness of the term *aplasia cutis congenita* is that it does not include the presence of dysplasia as observed in several piglets of this study. *Aplasia cutis congenita* is considered as an ectodermal defect. In our cases, a part of the dermis was also absent, suggesting either that the embryonic mesoderm was also involved, or that part of the dermis might in fact originate from the embryonic ectoderm, as is suggested by Balinsky.² However, most authors believe that the dermis comes solely from the

mesoderm.^{6,17} Further investigation of this problem could therefore provide a good model for the study of skin embryogenesis. As observed in many of the cases in this study, an increased number of hair follicles¹⁶ and abnormally oriented hair¹⁵ have been previously described in the margins surrounding the skin defects in swine. The presence of concomitant dysplastic lesions is also consistent with a developmental defect.

To our knowledge, the peculiar congenital subcutaneous bullae observed in some piglets of this study have not been previously reported. Their precise origin has not been determined. Although their low protein and triglyceride content was not compatible with lymph or seromas (except in one case), their content could have changed with time, so these possibilities cannot be completely excluded. Another, although unlikely possibility, is that they could represent markedly dilated sudoriparous glands that lost their epithelial lining. Their relationship, if any, with lesions of *epitheliogenesis imperfecta* remains unknown. Theoretically, the rupture of these bullae, subsequently leaving punched out lesions and "flaps" of skin at the margins would be an attractive hypothesis for the development of lesions of *epitheliogenesis imperfecta*. However, the location of the bullae is hardly compatible with such a theory, since bullae were noted in the subcutis, whereas *epitheliogenesis imperfecta* lesions rarely extended deeper than the mid-dermis. The remainder of a capsule would also be expected at the margins of these lesions, as was found around some of the bullae. This hypothesis also would not

explain the presence of dysplastic edges and purely dysplastic lesions found in several animals of this study.

Although lesions of *epitheliogenesis imperfecta* have been described previously in the oral cavity, namely on the tongue of piglets,⁹ none of the piglets of this study presented such lesions. This alternative pattern or manifestation of the disease, not reported in the last decades, might represent a different entity. Similarly, concurrent congenital hydroureter and hydronephrosis reported to be frequent in these piglets were observed in only 3 animals in our study.

The isolation of *Escherichia coli* from the internal organs of 2 sick piglets confirms that animals affected with *epitheliogenesis imperfecta* might have an increased susceptibility to septicemia,²⁴ particularly when the cutaneous lesions are extensive. The weakness of 2 other animals could be attributed to hypoglycemia, secondary to inanition. Another animal was also very weak despite the absence of septicemia and the presence of milk in its stomach. A different cause, such as a loss of liquid or an electrolyte imbalance could be responsible for some deaths as suggested previously.²³ It is also possible that large epithelial defects may render young piglets more susceptible to heat loss.

As this condition is sporadic and affects few animals within a litter, and because of the widespread use of heterospermic artificial insemination, it would be difficult and probably economically unsound to prevent this disease by removal of

breeding stock known to have produced affected progeny. However, defective offspring that survive should not be kept as future breeders. As shown in this study, lesions can heal when not too large and given time and care. Antibiotics or non irritant topic disinfectants may be used to prevent secondary infections that may potentially lead to septicemia.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the farm employees (Brigitte McDonald, Johanne LeFrançois, Sandra Thibodeau and Catherine L'Heureux) and attending veterinarian (Dr. Julie Ménard), without whom the realization of this project would not have been possible.

Sources and manufacturers

- a. Keratin, Pan Ab-1 (Clone AE1/AE3), NeoMarkers Inc., Fremont, CA
- b. Vimentin Ab-2 (Clone V9) , NeoMarkers Inc., Fremont, CA

References

- 1 Baker JR, Lyon DG: 1983, Epitheliogenesis imperfecta and gonadal malformation in pumas (*Felis concolor*). *Vet Rec* 112:37.
- 2 Balinskiy BI: 1970, The fate of the epidermis and the structures derived therefrom. *In: An introduction to embryology*, ed. Balinski BI, 3rd ed., pp. 412-423. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- 3 Bentinck-Smith J: 1951, A congenital epithelial defect in a herd of Berkshire swine. *Cornell Vet* 41:47-51.
- 4 Cameron RDA: 2006, Diseases of the skin. *In: Diseases of swine*, eds. Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, 9th ed., p. 195. Blackwell Publishing, Ames, IA.
- 5 Drolet B, Prendiville J, Golden J, et al.: 1995, 'Membranous aplasia cutis' with hair collars. Congenital absence of skin or neuroectodermal defect? *Arch Dermatol* 131:1427-1431.
- 6 Guidoni P: 1968, Les téguments et leurs annexes. *In: Embryologie*, ed. Guidoni P, pp. 393-397. Éditions Doin, Paris, France.
- 7 Hadley FB: 1927, Congenital epithelial defects of calves. *J Hered* 18:487-495.
- 8 Huston R, Schoneweis D, Leipold HW: 1978, Congenital defects in pigs. *Vet Bull* 48:645-675.
- 9 Jubb KVF, Kennedy PC: 1970, Congenital defects of the skin and appendages. *In: Pathology of domestic animals*, eds. Jubb KVF, Kennedy PC, 2nd ed., pp. 569-572. Academic Press, San Diego, CA.

- 10 Juriloff DM, Harris MJ: 2000, Mouse models for neural tube closure defects. Hum Mol Genet 9:993-1000.
- 11 Lieto LD, Cothran EG: 2003, The epitheliogenesis imperfecta locus maps to equine chromosome 8 in American Saddlebred horses. Cytogenet Genome Res 102:207-210.
- 12 Lieto LD, Swerczek TW, Cothran EG: 2002, Equine epitheliogenesis imperfecta in two American Saddlebred foals is a lamina lucida defect. Vet Pathol 39:576-580.
- 13 Mallowney PC, Hall RF: 1984, Skin diseases of swine. Vet Clin North Am Large Anim Pract 6:107-129.
- 14 Nieberle K, Cohrs P: 1967, Skin. In: Textbook of special pathological anatomy of domestic animals, ed. Cohrs P, pp. 949-990. Pergamon Canada Ltd., Toronto, ON.
- 15 Nordby JE: 1929, Congenital skin, ear and skull defects in a pig. Anat Rec 42:267-280.
- 16 Parish WE, Done JT: 1962, Seven apparently congenital non-infectious conditions of the skin of the pig, resembling congenital defects in man. J Comp Pathol 72:286-298.
- 17 Sadler TW: 1985, Integumentary system. In: Langman's medical embryology, ed. Sadler TW, 5th ed., pp. 329-333. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- 18 Sailer J: 1955, *Epitheliogenesis imperfecta neonatorum* beim Schwein. Tierarztl Umsch 10:215-216.

- 19 Scott DW: 1988, Congenital and hereditary diseases. *In: Large animal dermatology*, ed. Scott DW, pp. 334-357. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- 20 Scott DW, Miller WHJ: 2003, Congenital and hereditary skin diseases. *In: Equine dermatology*, eds. Scott DW, Miller WH, pp. 628-646. Saunders, St. Louis, MO.
- 21 Sellar MJ: 1995, Sex, neural tube defects, and multisite closure of the human neural tube. *Am J Med Genet* 58:332-336.
- 22 Thoonen J, Hoorens J: 1956, Epitheliogenesis imperfecta neonatorum bij het varken. *Tijdschr Diergeneeskd* 25:239-243.
- 23 Wright BG: 1986, Epitheliogenesis imperfecta: understanding this rare skin anomaly. *Vet Med* 81:246-248.
- 24 Yager JA, Scott DW: 1993, Epitheliogenesis imperfecta. *In: Pathology of domestic animals*, eds. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, 4th ed., pp. 553-554. Academic Press, San Diego, CA.

Figures

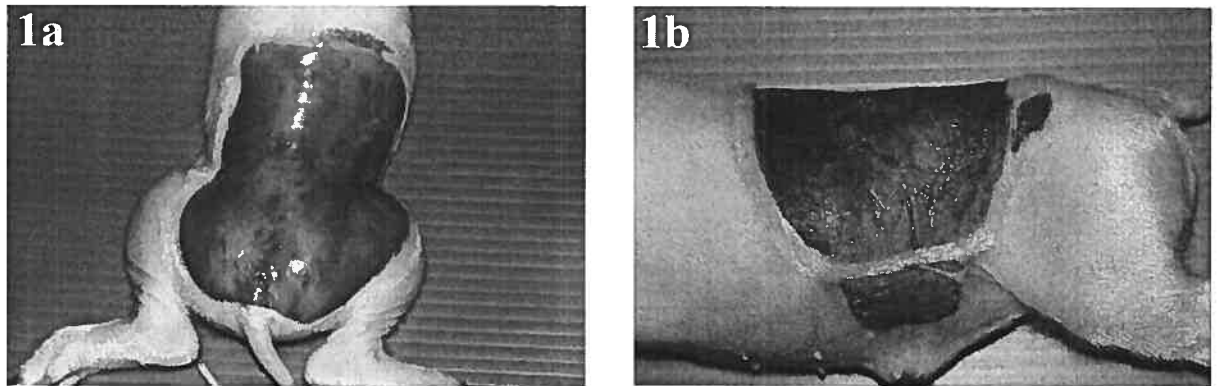


Figure 1. Simple (a) and multiple (b) skin lesions of *epitheliogenesis imperfecta*, all located in the caudal half of the body. Lesions in newborns are moist and glistening (a).



Figure 2. The lesion focally extends deeper within the dermis.

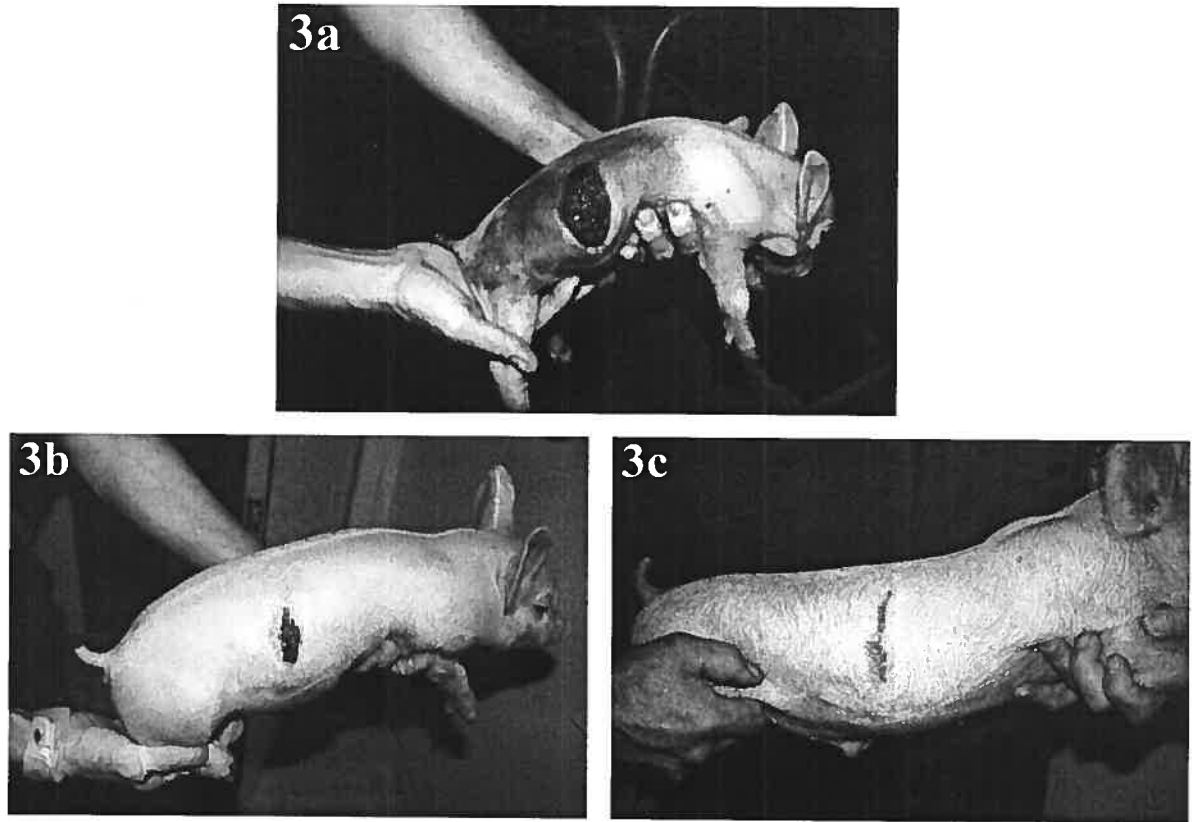


Figure 3. Evolution of a lesion in an affected piglet at 3 (a), 10 (b) and 31 days (c) of age.

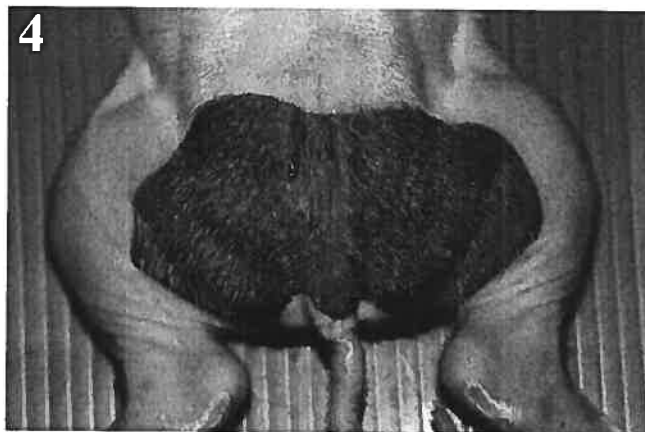


Figure 4. A lesion located in an area typical of *epitheliogenesis imperfecta* appears grossly hairy.

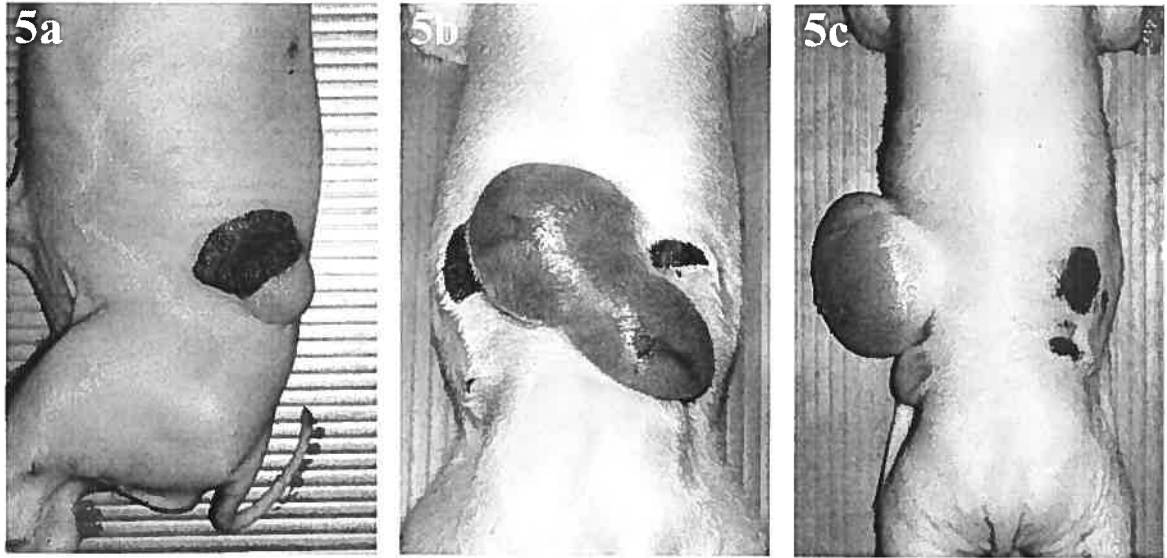


Figure 5. Congenital subcutaneous bullae were noted in some piglets; one was located under an *epitheliogenesis imperfecta* lesion (a) whereas others occurred near (b) or further apart (c) from such defects.



Figure 6. An infolding, filled with cellular and vegetal debris, is present at the junction between the normal and the affected skin. HEPS.

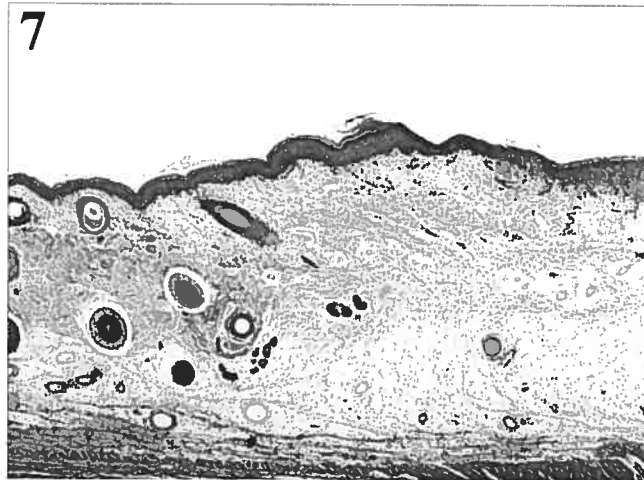


Figure 7. The epidermis and adnexae adjacent to the *epitheliogenesis imperfecta* lesion appear normal. HEPS.

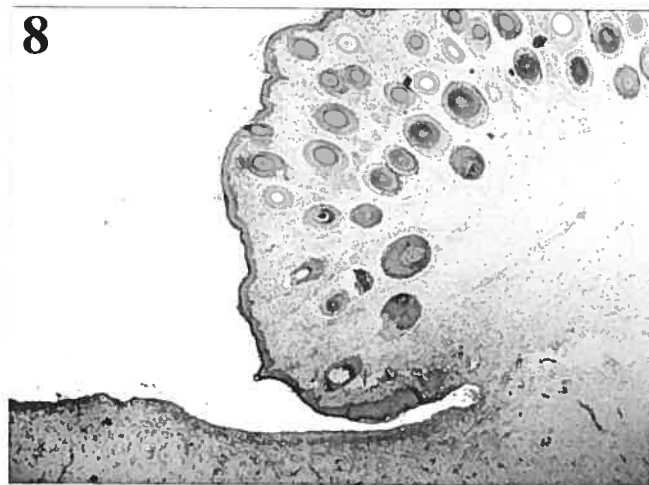


Figure 8. The hair follicles at the margin of the *epitheliogenesis imperfecta* lesion are increased in number. HEPS.

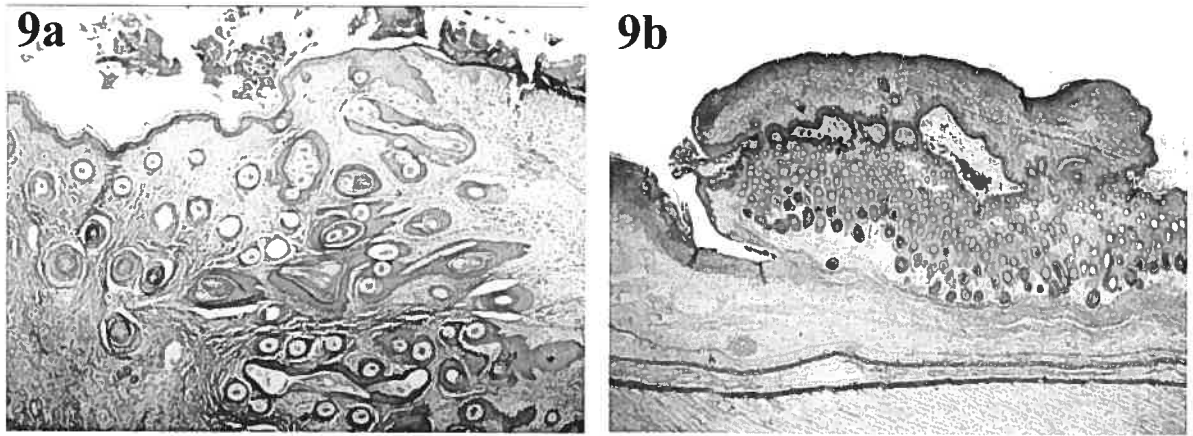


Figure 9. Dysplastic changes at the edge of some *epitheliogenesis imperfecta* lesions had a variable appearance. In some lesions, haphazardly arranged hair follicles could be seen at the junction between normal and affected skin (a) while the skin formed a peculiar, ulcerated, raised plateau at the edge of other lesions (b). HEPS.

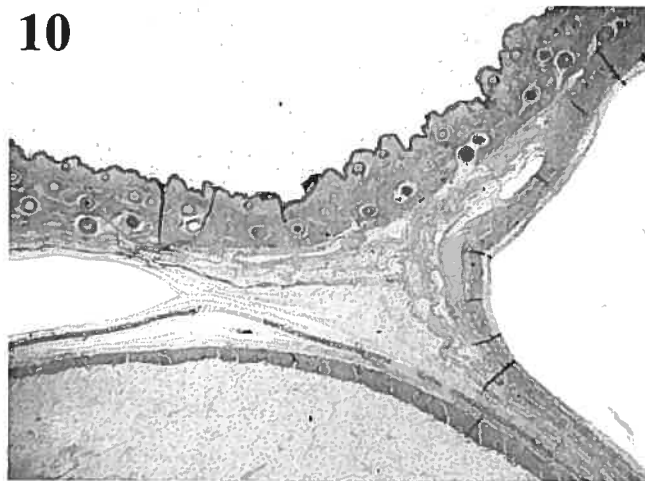


Figure 10. Two bullae are present in the subcutis. One bulla is surrounded by a thick fibrous capsule (right), whereas the capsule of the other one is fairly thin (left). HEPS.

Discussion

La faible incidence de l'*epitheliogenesis imperfecta* au sein d'une portée serait compatible avec un problème autosomique récessif. Toutefois, une proportion égale de mâles et de femelles devrait être présente avec ce type de transmission. Le nombre élevé de porcelets mâles dans cette étude serait plutôt suggestif d'un problème relié au sexe, qu'il soit lié au chromosome X ou non. Étant donné que jusqu'à 3 verrats étaient utilisés dans une insémination, il n'était pas possible avec un nombre aussi limité de cas de relier ce problème cutané congénital avec certains verrats en particulier. Un défaut congénital non-héréditaire serait également compatible avec une faible incidence tant au sein d'une portée que d'un troupeau. Certains problèmes non-héréditaires ont une fréquence qui peut être plus élevée chez les individus d'un sexe en particulier, tel qu'observé dans les cas de problèmes de fermeture du tube neural chez les humains, auxquels les femelles semblent prédisposées.^{51,88} Étant donné que cette étude n'est basée que sur un seul troupeau et que les conditions environnementales et génétiques varient d'une ferme à l'autre, il est possible que la fréquence et la transmission de ce problème soient différentes dans d'autres troupeaux. Cependant, une prévalence plus élevée de ce problème chez les mâles a été rapportée dans un autre rapport de cas.⁹ Des truies de toutes les parités ont donné naissance à des porcelets affectés, éliminant la possibilité d'un problème relié à l'âge de la truie.

Des cas d'*epidermolysis bullosa* ont souvent été décrits sous le nom d'*epitheliogenesis imperfecta*. Dans l'épidermolyse bulleuse, les régions ulcérées se retrouvent aux endroits les plus sujets à des dommages mécaniques, c'est-à-dire la cavité orale et les extrémités des membres. Des séparations dermo-épidermiques peuvent alors être observées au microscope en marge des lésions et les annexes cutanées sont habituellement présentes au sein des défauts. Dans cette étude, les sites affectés et les lésions microscopiques n'étaient pas compatibles avec de l'*epidermolysis bullosa*. En effet, aucune séparation dermo-épidermique n'a été observée, les défauts s'étendaient jusque dans le derme superficiel à moyen et tous se retrouvaient dans la moitié caudale du corps.

Étymologiquement, l'expression *epitheliogenesis imperfecta* fait référence à une malformation de l'épithélium, ce qui décrit la majorité des lésions observées chez les porcelets de cette étude, à l'exception de l'implication du derme. Étant donné que l'épithéliogenèse imparfaite en médecine vétérinaire inclut également l'épidermolyse bulleuse, il serait sans doute plus approprié d'utiliser le terme *aplasia cutis congenita* pour décrire des lésions telles que celles observées chez les porcelets de cette étude. Cette expression réfère à une absence partielle de peau, ce qui inclut donc le derme. Le terme *aplasia cutis congenita* est également utilisé en médecine humaine pour décrire des lésions semblables à celles notées chez ces porcelets. Chez les humains, de tels défauts sont rapportés au niveau du cuir chevelu de même qu'ailleurs sur le corps. Des rosettes se retrouvent autour de certaines lésions présentes sur le cuir chevelu; celles-là sont

caractéristiques de défauts du neurectoderme.²³ La seule faiblesse de l'expression *aplasia cutis congenita* est qu'elle n'inclut pas la possibilité de dysplasie, telle qu'observée chez plusieurs porcelets de cette étude. L'aplasie cutanée congénitale est considérée comme un défaut ectodermique. Chez nos porcelets, une partie du derme était souvent absente, suggérant soit que le mésoderme embryonnaire était également impliqué, soit que le derme origine également de l'ectoderme, tel que le suggère Balinsky.⁵ Cependant, la plupart des auteurs pensent plutôt que le derme ne provient que du mésoderme.^{38,83} Une étude plus approfondie de ce problème constituerait possiblement un bon modèle pour l'étude de l'embryogenèse cutanée. Tel qu'observé chez plusieurs animaux de cette étude, une augmentation du nombre de follicules pileux⁷⁷ et des poils anormalement orientés⁷¹ ont déjà été décrits en marge des défauts cutanés. La présence concomitante de lésions dysplasiques serait également compatible avec un problème de développement cutané.

La présence de bulles sous-cutanées congénitales n'a jamais été décrite auparavant. Leur origine précise n'a pu être déterminée. Quoique leur contenu faible en protéines et en triglycérides ne soit pas compatible avec de la lymphe ou un séroma, leur contenu pourrait avoir changé avec le temps et ces possibilités ne peuvent donc pas être complètement exclues. Une autre possibilité, quoique peu probable, est que ces bulles pourraient résulter d'une dilatation très sévère de glandes sudoripares qui auraient perdu leur épithélium de surface. Leur relation avec les lésions d'*epitheliogenesis imperfecta* demeure inconnue. Théoriquement,

la rupture de ces bulles, laissant subséquemment des lésions aux contours bien définis et des replis cutanés en marge de certaines lésions, serait une hypothèse attrayante pour expliquer le développement des lésions d'*epitheliogenesis imperfecta*. Toutefois, la localisation des bulles observées rend cette théorie moins probable, étant donné que les bulles se retrouvaient dans le tissu sous-cutané, alors que les lésions d'épithéliogenèse imparfaite s'étendaient rarement au-delà du derme moyen. Comme plusieurs bulles étaient entourées d'une capsule épaisse, des restes d'une telle capsule devraient se retrouver aux marges de certaines lésions, ce qui n'a pas été observé. Cette hypothèse n'expliquerait pas non plus la présence de marges dysplasiques et de lésions purement dysplasiques observées chez plusieurs animaux de cette étude.

Quoique des lésions d'*epitheliogenesis imperfecta* ont été décrites auparavant dans la cavité orale, c'est-à-dire la langue,⁵⁰ de certains porcelets, aucun des animaux de cette étude ne présentait de telles lésions. Dans le même ordre d'idée, des lésions congénitales concomitantes d'hydronéphrose et d'hydrouretère n'ont été observées que chez 3 animaux de cette étude. De telles lésions n'ont pas été décrites au cours des dernières décennies, et elles représentent possiblement une entité pathologique complètement différente.

L'isolement d'*Escherichia coli* à partir des organes internes de 2 porcelets faibles confirme que les animaux affectés d'épithéliogenèse imparfaite pourraient être plus susceptibles de développer une septicémie,¹⁰¹ particulièrement lorsque

les lésions sont étendues. La faiblesse observée chez 2 autres animaux pourrait être due à une hypoglycémie secondaire à l'inanition. Un autre animal était également très faible sans toutefois présenter de septicémie ou un estomac vide. Une cause différente, telle que la perte de liquide ou un déséquilibre électrolytique pourrait entraîner la mort de certains animaux, tel que le suggérait Wright.¹⁰⁰ Il est aussi possible que la présence de défauts cutanés étendus augmente la susceptibilité des jeunes porcelets à la perte de chaleur.

Comme cette condition est sporadique et n'affecte que peu d'animaux dans une portée, et étant donné l'utilisation commune de l'insémination artificielle hétérospérmiq ue, il serait difficile et sans doute peu rentable économiquement de tenter de prévenir cette maladie en éliminant les animaux reproducteurs ayant engendré des porcelets atteints. Toutefois, les animaux affectés survivant malgré leurs lésions ne devraient pas être utilisés pour la reproduction. Tel que démontré dans cette étude, les lésions peuvent guérir lorsqu'elles ne sont pas trop étendues et qu'elles sont maintenues propres. Il est possible d'utiliser des antibiotiques ou des désinfectants topiques non irritants pour prévenir les infections secondaires pouvant potentiellement mener à une septicémie.

Conclusion

Quoique la transmission de l'*epitheliogenesis imperfecta* ait auparavant été décrite comme possiblement autosomique récessive chez le porc, selon nos observations, un problème relié au sexe serait plus probable.

L'origine exacte des bulles sous-cutanées congénitales que nous avons décrites chez quelques porcelets demeure incertaine. Un examen plus approfondi d'un plus grand nombre d'animaux affectés pourrait permettre d'en expliquer la provenance et de vérifier s'il existe une association entre ces lésions et l'*epitheliogenesis imperfecta*.

La présence concomitante de lésions dysplasiques chez des porcelets atteints d'*epitheliogenesis imperfecta* suggère que cette condition serait la manifestation d'un problème survenant au cours de la formation de la peau plutôt que d'un problème structurel au sein de cet organe, tel qu'observé dans les cas d'*epidermolysis bullosa*.

Les problèmes se manifestant cliniquement comme des cas d'*epitheliogenesis imperfecta* chez les autres espèces animales gagneraient à être clarifiés afin de remédier à la confusion entre l'*aplasia cutis congenita* et l'*epidermolysis bullosa*. L'utilisation de ces deux dernières expressions serait préférable plutôt que d'utiliser le terme *epitheliogenesis imperfecta*, qui ne fournit

qu'une description clinique, sans s'attarder sur l'origine du problème, qui est pourtant très différente.

Une uniformisation du vocabulaire utilisé en médecine vétérinaire et en médecine humaine serait sans doute souhaitable, sachant que « *epitheliogenesis imperfecta* » n'est pas utilisé en médecine humaine. L'*aplasia cutis congenita* est relativement rare chez les humains et la cause exacte d'une grande proportion de cas demeure encore inconnue. Les porcs ayant une descendance beaucoup plus nombreuse et les animaux étant disponibles plus facilement pour la recherche, cette espèce pourrait constituer un modèle intéressant pour étudier ce phénomène.

Sources documentaires

- 1 Agerholm JS: 1994, Congenital generalized epidermolysis bullosa in a calf.
Zentralbl Veterinarmed A 41:139-142.
- 2 Al-Ani FK: 1995, *Epitheliogenesis imperfecta* in a flock of Awassi sheep in Iraq.
Small Ruminant Res:283-285.
- 3 Alley MR, O'Hara PJ, Middelberg A: 1974, An epidermolysis bullosa of sheep.
N Z Vet J 22:55-59.
- 4 Baker JR, Lyon DG: 1983, Epitheliogenesis imperfecta and gonadal
malformation in pumas (*Felis concolor*). Vet Rec 112:37.
- 5 Balinskiy BI: 1970, The fate of the epidermis and the structures derived
therefrom. *In*: An introduction to embryology, ed. Balinski BI, 3rd ed., pp.
412-423. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- 6 Barnikol H, Gruber S, Thalmann A, Schmidt HL: 1982, Fusarium toxicosis in
pigs by trichothecenes possibly associated with ergot. Tierarztl Umsch
37:114-126.
- 7 Barnikol H, Thalmann A, Wengert D: 1985, Epithelial skin defects in newborn
piglets associated with a Fusarium toxin (T-2 toxin) and ergot. Tierarztl
Umsch 40:658-666.
- 8 Bassett H: 1987, A congenital bovine epidermolysis resembling epidermolysis
bullosa simplex of man. Vet Rec 121:8-11.
- 9 Bentinck-Smith J: 1951, A congenital epithelial defect in a herd of Berkshire
swine. Cornell Vet 41:47-51.

- 10 Bergman R: 1999, Immunohistopathologic diagnosis of epidermolysis bullosa. *Am J Dermatopathol* 21:185-192.
- 11 Borradori L, Sonnenberg A: 1999, Structure and function of hemidesmosomes: more than simple adhesion complexes. *J Invest Dermatol* 112:411-418.
- 12 Brenneman KA, Olivry T, Dorman DC: 2000, Rudimentary hemidesmosome formation in congenital generalized junctional epidermolysis bullosa in the Sprague-Dawley rat. *Vet Pathol* 37:336-339.
- 13 Buchbinder LH, Lucky AW, Ballard E, et al.: 1986, Severe infantile epidermolysis bullosa simplex. Dowling-Meara type. *Arch Dermatol* 122:190-198.
- 14 Burkitt HG, Young B, Heath JW, Deakin PJ: 1993, Le tissu conjonctif. *In: Histologie fonctionnelle* Wheater, eds. Burkitt HG, Young B, Heath JW, Deakin PJ, 3rd ed., pp. 61-75. Arnette, Paris, France.
- 15 Butz Hv, Meyer H: 1957, Epitheliogenesis imperfecta neonatorum equi. *Dtsch Tierarztl Wschr* 64:555-559.
- 16 Cameron RDA: 2006, Diseases of the skin. *In: Diseases of swine*, eds. Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, 9th ed., p. 195. Blackwell Publishing, Ames, IA.
- 17 Collobert-Laugier C, Tariel G: 1993, Malformations congénitales du poulain : étude rétrospective sur sept années d'autopsies. *Prat Vet Eq* 25:105-110.
- 18 Crowell WA, Stephenson C, Gosser HS: 1976, Epitheliogenesis imperfecta in a foal. *J Am Vet Med Assoc* 168:56-58.

- 19 Dalir-Naghadeh B, Seifi HA, Farshid AA: 2004, Congenital bovine epitheliogenesis imperfecta: a report of three cases from Iran. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 51:409-412.
- 20 Davies IH: 1988, Red foot disease in Welsh mountain lambs. *Vet Rec* 122:464-465.
- 21 de Allie C, Alley MR, Leadbetter IR: 1994, An epidermolysis bullosa in a Galloway calf. *N Z Vet J* 42:77.
- 22 Demmel U: 1975, Clinical aspects of congenital skin defects. I. Congenital skin defects on the head of the newborn. *Eur J Pediatr* 121:21-50.
- 23 Drolet B, Prendiville J, Golden J, et al.: 1995, 'Membranous aplasia cutis' with hair collars. Congenital absence of skin or neuroectodermal defect? *Arch Dermatol* 131:1427-1431.
- 24 Dunstan RW, Sills RC, Wilkinson JE, et al.: 1988, A disease resembling junctional epidermolysis bullosa in a toy poodle. *Am J Dermatopathol* 10:442-447.
- 25 Fine J-D, Eady RAJ, Bauer EA, et al.: 2000, Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: report of the Second International Consensus Meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 42:1051-1066.
- 26 Fine J-D, Eady RAJ, Bauer EA, et al.: 2000, Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: report of the Second International Consensus Meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol*:1051-1066.

- 27 Fine JD, McGrath J, Eady RA: 2000, Inherited epidermolysis bullosa comes into the new millenium: a revised classification system based on current knowledge of pathogenetic mechanisms and the clinical, laboratory, and epidemiologic findings of large, well-defined patient cohorts. *J Am Acad Dermatol* 43:135-137.
- 28 Fonseca W, Alencar AJ, Pereira RM, Misago C: 1993, Congenital malformation of the scalp and cranium after failed first trimester abortion attempt with misoprostol. *Clin Dysmorphol* 2:76-80.
- 29 Fontaine J: 1992, Épidermolyse bulleuse jonctionnelle familiale chez des chiots Berger de Beauce. *In: Congrès Annuel de la Conférence Nationale des Vétérinaires Spécialistes des Petits Animaux*, ed. PMCAC, p. 310. Paris, France.
- 30 Frame SR, Harrington DD, Fessler J, Frame PF: 1988, Hereditary junctional mechanobullous disease in a foal. *J Am Vet Med Assoc* 193:1420-1424.
- 31 Frey J, Chamson A, Gourreau JM, Gillet JP: 1989, Collagen and lipid biosynthesis in a case of epitheliogenesis imperfecta in cattle. *J Invest Dermatol* 93:83-86.
- 32 Frieden IJ: 1986, Aplasia cutis congenita: a clinical review and proposal for classification. *J Am Acad Dermatol* 14:646-660.
- 33 Fuchs E, Coulombe P, Cheng J, et al.: 1994, Genetic bases of epidermolysis bullosa simplex and epidermolytic hyperkeratosis. *J Invest Dermatol* 103:25S-30S.

- 34 Gottlieb SK, Lutzner MA: 1970, Hailey-Hailey disease - an electron microscopic study. *J Invest Dermatol* 54:368-376.
- 35 Guaguère É: 1996, Familial canine dermatomyositis in 8 Beauceron Shepherds. *In: 3rd World Congress of Veterinary Dermatology*, p. 65. Edinburgh, Scotland.
- 36 Guaguère É, Muller A, Cauzinille L: 2001, Braque allemand. *Prat Méd Chir Anim Comp* 36:239-247.
- 37 Guaguère É, Olivry T, Poujade-Delverdier A, Magnol JP: 1997, Épidermolyse bulleuse jonctionnelle familiale associée à une absence d'expression de collagène XVII (BPAG2, BP180) chez le Braque Allemand: à propos de deux cas. *Prat Méd Chir Anim Comp* 32:471-480.
- 38 Guidoni P: 1968, Les téguments et leurs annexes. *In: Embryologie*, ed. Guidoni P, pp. 393-397. Éditions Doin, Paris, France.
- 39 Gupta BN: 1973, Epitheliogenesis imperfecta in a dog. *Am J Vet Res* 34:443-444.
- 40 Hadley FB: 1927, Congenital epithelial defects of calves. *J Hered* 18:487-495.
- 41 Hargis AM, Ginn PE: 2001, Integumentary system. *In: Thomson's special veterinary pathology*, eds. McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF, pp. 537-599. Mosby, Philadelphia, PA.
- 42 Heinonen S, Mannikko M, Klement JF, et al.: 1999, Targeted inactivation of the type VII collagen gene (*Col7a1*) in mice results in severe blistering phenotype: a model for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Cell Sci* 112 (Pt 21):3641-3648.

- 43 Hubert A, Bonneau D, Couet D, et al.: 1994, Aplasia cutis congenita of the scalp in an infant exposed to valproic acid in utero. *Acta Paediatr* 83:789-790.
- 44 Huston R, Schoneweis D, Leipold HW: 1978, Congenital defects in pigs. *Vet Bull* 48:645-675.
- 45 Hutt FB: 1934, Inherited lethal characters in domestic animals. *Cornell Vet* 24:1-25.
- 46 Hutt FB, Frost JN: 1948, Hereditary epithelial defects in Ayrshire cattle. *J Hered* 39:131-137.
- 47 Jayasekara MU, Leipold HW: 1979, Epitheliogenesis imperfecta in Shorthorn and Angus cattle. *Zentralbl Veterinarmed A* 26:497-501.
- 48 Johnson GC, Kohn CW, Johnson CW, et al.: 1988, Ultrastructure of junctional epidermolysis bullosa in Belgian foals. *J Comp Pathol* 99:329-336.
- 49 Jolly RD, Alley MR, O'Hara PJ: 1973, Familial acantholysis of Angus calves. *Vet Pathol* 10:473-483.
- 50 Jubb KVF, Kennedy PC: 1970, Congenital defects of the skin and appendages. *In: Pathology of domestic animals*, eds. Jubb KVF, Kennedy PC, 2nd ed., pp. 569-572. Academic Press, San Diego, CA.
- 51 Juriloff DM, Harris MJ: 2000, Mouse models for neural tube closure defects. *Hum Mol Genet* 9:993-1000.
- 52 Kelly BJ, Samolitis NJ, Xie DL, Skidmore RA: 2002, Aplasia cutis congenita of the trunk with fetus papyraceus. *Pediatr Dermatol* 19:326-329.

- 53 Kohn CW, Johnson GC, Garry F, et al.: 1989, Mechanobullous disease in two Belgian foals. *Equine Vet J* 21:297-301.
- 54 Kuster JE, Guarnieri MH, Ault JG, et al.: 1997, IAP insertion in the murine LamB3 gene results in junctional epidermolysis bullosa. *Mamm Genome* 8:673-681.
- 55 Leipold HW, Mills JH, Huston K: 1973, Epitheliogenesis imperfecta in Holstein-Friesian calves. *Can Vet J* 14:114-118.
- 56 Letai A, Coulombe PA, McCormick MB, et al.: 1993, Disease severity correlates with position of keratin point mutations in patients with epidermolysis bullosa simplex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:3197-3201.
- 57 Lieto LD, Cothran EG: 2003, The epitheliogenesis imperfecta locus maps to equine chromosome 8 in American Saddlebred horses. *Cytogenet Genome Res* 102:207-210.
- 58 Lieto LD, Swerczek TW, Cothran EG: 2002, Equine epitheliogenesis imperfecta in two American Saddlebred foals is a lamina lucida defect. *Vet Pathol* 39:576-580.
- 59 Martin J, Ross JB: 1984, Aplasia cutis congenita. *Can Med Assoc J* 130:421-422.
- 60 Martinez-Frias ML, Cereijo A, Rodriguez-Pinilla E, Urioste M: 1992, Methimazole in animal feed and congenital aplasia cutis. *Lancet* 339:742-743.

- 61 McMillan JR, McGrath JA, Tidman MJ, Eady RA: 1998, Hemidesmosomes show abnormal association with the keratin filament network in junctional forms of epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 110:132-137.
- 62 McTaggart HS, Ritchie JS, Copland AN: 1974, Red foot disease of lambs. *Vet Rec* 94:153-159.
- 63 Milenkovic D, Chaffaux S, Taourit S, Guerin G: 2003, A mutation in the LAMC2 gene causes the Herlitz junctional epidermolysis bullosa (H-JEB) in two French draft horse breeds. *Genet Sel Evol* 35:249-256.
- 64 Milham S, Jr.: 1985, Scalp defects in infants of mothers treated for hyperthyroidism with methimazole or carbimazole during pregnancy. *Teratology* 32:321.
- 65 Mirsky ML, Singleton W, Olivry T: 2000, "Have you seen this?" Spontaneous cutaneous vesicular disease in Yucatan minipigs. *Toxicol Pathol* 28:357-358.
- 66 Mallowney PC, Hall RF: 1984, Skin diseases of swine. *Vet Clin North Am Large Anim Pract* 6:107-129.
- 67 Munday BL: 1970, Epitheliogenesis imperfecta in lambs and kittens. *Br Vet J* 126:xlvii.
- 68 Nagata M, Iwasaki T, Masuda H, Shimizu H: 1997, Non-lethal junctional epidermolysis bullosa in a dog. *Br J Dermatol* 137:445-449.
- 69 Nagata M, Shimizu H, Masunaga T, et al.: 1995, Dystrophic form of inherited epidermolysis bullosa in a dog (Akita Inu). *Br J Dermatol* 133:1000-1003.

- 70 Nieberle K, Cohrs P: 1967, Skin. *In*: Textbook of special pathological anatomy of domestic animals, ed. Cohrs P, pp. 949-990. Pergamon Canada Ltd., Toronto, ON.
- 71 Nordby JE: 1929, Congenital skin, ear and skull defects in a pig. *Anat Rec* 42:267-280.
- 72 O'Dair HA, Henderson JP: 1994, Suspected mechanobullous skin disease in a cat. *J Small Anim Pract*:24-27.
- 73 Olivry T: 2002, Dermo-epidermal junction: animal pathology. *In*: 18th Annual Congress of the ESVD-ECVD, pp. 67-75. Nice, France.
- 74 Olivry T: 2002, Structure and function of the dermo-epidermal junction: 2002 update. *In*: 18th Annual Congress of the ESVD-ECVD, pp. 51-58. Nice, France.
- 75 Olivry T, Mirsky ML, Singleton W, et al.: 2000, A spontaneously arising porcine model of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 292:37-45.
- 76 Palazzi X, Marchal T, Chabanne L, et al.: 2000, Inherited dystrophic epidermolysis bullosa in inbred dogs: A spontaneous animal model for somatic gene therapy. *J Invest Dermatol* 115:135-137.
- 77 Parish WE, Done JT: 1962, Seven apparently congenital non-infectious conditions of the skin of the pig, resembling congenital defects in man. *J Comp Pathol* 72:286-298.
- 78 Perelman B, Cognano E, Katchko L, et al.: 1995, An unusual mechanobullous skin disorder in ostriches (*Struthio camelus*). *J Avian Med Surg* 9:122-126.

- 79 Regan WM, Mead SW, Gregory PW: 1935, An inherited skin defect in cattle. *J Hered* 26:357-362.
- 80 Rest JR: 1989, Pathology of two possible genodermatoses. *J Small Anim Pract* 30:230-235.
- 81 Ryan MC, Lee K, Miyashita Y, Carter WG: 1999, Targeted disruption of the LAMA3 gene in mice reveals abnormalities in survival and late stage differentiation of epithelial cells. *J Cell Biol* 145:1309-1323.
- 82 Sadler TW: 1985, Central nervous system. *In: Langman's medical embryology*, ed. Sadler TW, 5th ed., pp. 334-369. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- 83 Sadler TW: 1985, Integumentary system. *In: Langman's medical embryology*, ed. Sadler TW, 5th ed., pp. 329-333. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- 84 Sailer J: 1955, *Epitheliogenesis imperfecta neonatorum* beim Schwein. *Tierarztl Umsch* 10:215-216.
- 85 Scott DW: 1988, Congenital and hereditary diseases. *In: Large animal dermatology*, ed. Scott DW, pp. 334-357. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
- 86 Scott DW, Miller WHJ: 2003, Congenital and hereditary skin diseases. *In: Equine dermatology*, eds. Scott DW, Miller WH, pp. 628-646. Saunders, St. Louis, MO.
- 87 Scott DW, Schultz RD: 1977, Epidermolysis bullosa simplex in the Collie dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 171:721-727.

- 88 Seller MJ: 1995, Sex, neural tube defects, and multisite closure of the human neural tube. *Am J Med Genet* 58:332-336.
- 89 Spirito F, Charlesworth A, Linder K, et al.: 2002, Animal models for skin blistering conditions: absence of laminin 5 causes hereditary junctional mechanobullous disease in the Belgian horse. *J Invest Dermatol* 119:684-691.
- 90 Stannard AA: 2000, Congenital diseases. *Vet Dermatol* 11:211-215.
- 91 Swerczek TW, Lieto LD, Cothran EG: 2004, Developmental defects of enamel in American Saddlebred foals with epitheliogenesis imperfecta. *J Equine Vet Sc* 24:386-390.
- 92 Thompson KG, Crandell RA, Rugeley WW, Sutherland RJ: 1985, A mechanobullous disease with sub-basilar separation in Brangus calves. *Vet Pathol* 22:283-285.
- 93 Thoonen J, Hoorens J: 1956, Epitheliogenesis imperfecta neonatorum bij het varken. *Tijdschr Diergeneeskd* 25:239-243.
- 94 Toriello HV, Lacassie Y, Droste P, Higgins JV: 1993, Provisionally unique syndrome of ocular and ectodermal defects in two unrelated boys. *Am J Med Genet* 45:764-766.
- 95 Venu R, Murthy PRK, Sudhakar K, Dhanalakshmi N: 2001, Epitheliogenesis imperfecta in a Murrah buffalo calf - A case report. *Indian Vet J*:658.
- 96 White SD, Dunstan RW, Olivry T, et al.: 1993, Dystrophic (dermolytic) epidermolysis bullosa in a cat. *Vet Dermatol* 4:91-95.

- 97 Wilgram GF, Caulfield JB, Lever WF: 1962, An electron-microscopic study of acantholysis and dyskeratosis in Hailey's disease. *J Invest Dermatol* 39:373-381.
- 98 Wilgram GF, Caulfield JB, Madgic EB: 1964, A possible role of the desmosome in the process of keratinization. An electron-microscopic study of acantholysis and dyskeratosis. *In: The epidermis*, eds. Montagna W, Lobitz WC, pp. 275-301. New York.
- 99 Wipprecht C, Horlacher WR: 1935, A lethal gene in Jersey cattle. *J Hered* 26:363-368.
- 100 Wright BG: 1986, Epitheliogenesis imperfecta: understanding this rare skin anomaly. *Vet Med*:246-248.
- 101 Yager JA, Scott DW: 1993, Epitheliogenesis imperfecta. *In: Pathology of domestic animals*, eds. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, 4th ed., pp. 553-554. Academic Press, San Diego, CA.

Annexe A

La *lamina lucida* se retrouve juste sous les kératinocytes basaux et mesure de 10 à 50 nm. Il se pourrait que la *lamina lucida* ne soit qu'un artefact de fixation et n'existe pas *in vivo*. La *lamina densa* a une épaisseur de 20 à 300 nm; elle constitue la membrane basale *sensu stricto*. La *lamina fibroreticularis* est une couche mal définie formant la transition avec le tissu conjonctif sous-jacent.¹⁴

Les filaments intermédiaires s'attachent à la périphérie des hémidesmosomes et s'étendent à l'intérieur du cytoplasme des kératinocytes, pour s'attacher au niveau de la membrane nucléaire (Figure 11). Ils sont formés des kératines 5 et 14.^{27,74}

Les hémidesmosomes lient les cellules épithéliales au tissu conjonctif sous-jacent. Ils se retrouvent à l'aspect interne du côté basal des kératinocytes basaux. Trois protéines importantes s'y retrouvent : les antigènes 1 et 2 de la pemphigoïde bulleuse (BPAG) et l'intégrine $\alpha 6\beta 4$.^{27,74}

Les principaux composants de la plaque interne sont la plectine et le BPAG-1 (BP230). La plectine et le BPAG-1 se lient aux filaments intermédiaires de kératine, au collagène XVII et à l'intégrine $\beta 4$.^{11,61,74}

La plaque externe est principalement formée par l'intégrine $\alpha6\beta4$ et le domaine cytoplasmique du collagène XVII (BPAG-2, BP180). L'intégrine $\alpha6\beta4$ se retrouve donc dans l'espace extracellulaire, sous les kératinocytes basaux, sur la surface adjacente à la membrane basale. La chaîne $\alpha6$ s'attache au collagène XVII. La chaîne $\beta4$ se lie au collagène XVII, à la plectine et au BPAG-1. Le collagène XVII interagit avec l'intégrine $\beta4$ et $\alpha6$, de même qu'avec la chaîne $\beta3$ de la laminine-5.⁷⁴

La *lamina densa* est formée de divers constituants, les plus importants étant le collagène IV et la laminine-5. La laminine-5 est formée de trois chaînes différentes : $\alpha3$, $\beta3$ et $\gamma2$. La chaîne $\alpha3$ se lie à l'intégrine $\alpha6\beta4$. La chaîne $\beta3$ se lie au collagène VII dans la *lamina densa* et au BPAG-2.^{11,61,74}

Les filaments d'ancrage relient les hémidesmosomes aux fibrilles d'ancrage; ils sont formés de collagène XVII. Les fibrilles d'ancrage s'étendent de la *lamina densa* au derme, où elles s'attacheraient à des plaques d'ancrage. Le collagène type VII est la composante majeure des fibrilles d'ancrage et il interagit avec la chaîne $\beta3$ de la laminine-5 et le collagène IV.^{27,74}

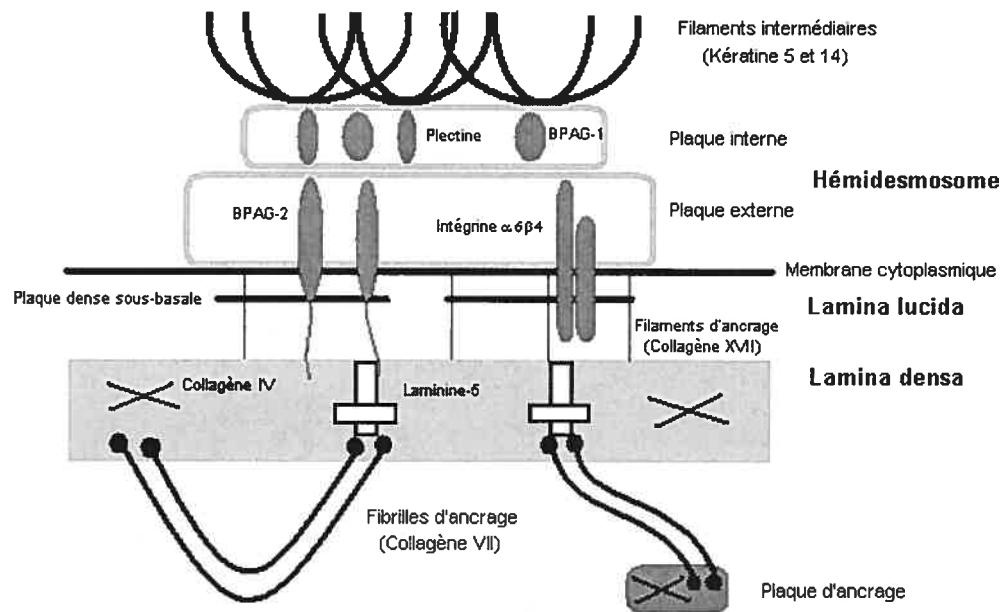


Figure 11. Les différents constituants de la membrane basale

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE¹

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant Marie-Odile Benoit-Biancamano		
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Pathologie

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs Marie-Odile Benoit-Biancamano Richard Drolet Sylvie D'Allaire	
Titre <i>Epitheliogenesis imperfecta (aplasia cutis congenita) in swine: observations from a large breeding herd</i>	
Revue Journal of Veterinary Diagnostic Investigation	Date de publication Soumis

DÉCLARATION DES COAUTEURS

Déclaration <i>À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que (Marie-Odile Benoit-Biancamano) inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre (Étude de l'aplasia cutis congenita (epitheliogenesis imperfecta) chez l'espèce porcine).</i>		
Coauteur Richard Drolet		Date 30/11/05
Coauteur Sylvie D'Allaire		Date 30/11/05
Coauteur		Date
Coauteur		Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date

¹Annexe II du Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat, mars 2001