

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2010 - Thèse n°



LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE DE L'INFECTION PAR LE FeLV : SYNTHÈSE ET CONSEILS AUX PRATICIENS

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 21 Mai 2010
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Aline PFISTER
Née le 17 Avril 1986
à Haguenau (67)



Nom	Prénom	Grade	
ALOGNINOUIWA	Théodore	PR1	UP Pathologie du bétail - Dpt Production animale
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	MC Classe Normale	UP GEGAZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) - Dpt Production animale
ARCANGIOLI	Marie-Anne	MC Classe Normale	UP Pathologie du bétail - Dpt Production animale UR UMR ENVL AFSSA Mycoplasmoses des Ruminants
ARTOIS	Marc	PR1	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Production animale UR UMR 5525 CNRS EJF EPHE INP ENVL TIMC-IMAG
AVISON	Timothy	PCEA	UP GEGAZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé)
BECKER	Claire	MC Classe Normale Stagiaire	UP Pathologie du bétail UR UMR ENVL AFSSA Mycoplasmoses des Ruminants
BELLI	Patrick	MC Contractuel	UP Pathologie Morphologique et Clinique - Dpt Analyses de Laboratoire
BELLUCO	Sara	MC Classe Normale Stagiaire	UP Pathologie Morphologique et Clinique
BENAMOU-SMITH	Agnès	MC Classe Normale	UP Equine - Dpt Equine UR UMR 1233 INRA/ENVL/ISARA Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques
BENOIT	Etienne	PR1	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Industrie UR UMR 1233 INRA/ENVL/ISARA Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques
BERNY	Philippe	PR2	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Industrie UR UMR 1233 INRA/ENVL/ISARA Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques
BERTHELET	Marie-Anne	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs)
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	PR2	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Carnivores UR UMR UCBL ENVL ERI 22 (INSERM) Agression Vasculaire Réponse tissulaire PT Logistique Bureau de la Pédagogie et de la Vie Etudiante Direction Adjoint au directeur - Chargée de la Vie étudiante
BOULOCHER	Caroline	MC Classe Normale Stagiaire	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) Dpt Carnivores - UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
BOURDOISEAU	Gilles	PR1	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Carnivores UR Thématique Leishmaniose Direction Adjoint au Directeur
BOURGOIN	Gilles	MC Classe Normale	PT Laboratoires d'analyses Parasitologie
BRUYERE	Pierre	MC Contractuel	UP Reproduction
BUBLOT	Isabelle	MC Contractuel	UP Médecine des Carnivores - Dpt Carnivores
BUFF	Samuel	MC Classe Normale	UP Reproduction - Dpt Carnivores UR UPSP ENVL ISARA Cryoconservation des ressources génétiques par la voie femelle PT CERREC PT Formation continue
BURONFOSSE	Thierry	MC Hors Classe	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Analyses de Laboratoire UR UMR 271 INSERM Hépatites virales
CADORE	Jean-Luc	PR1	UP Médecine des Carnivores - Dpt Equine UR UMR 754 INRA - UCBL - ENVL - EPHE Rétrovirus Pathologie comparée Direction Adjoint au directeur - Chargé de missions
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	MC Classe Normale	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie UR UMR 958 Protozoaires entérocoles des volailles
CAROZZO	Claude	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Carnivores UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
CHABANNE	Luc	PR2	UP Médecine des Carnivores Dpt Carnivores UR UPSP 5203 Pathologie Comparée des cellules dendritiques et présentatrices d'antigènes
CHALVET-MONFRAY	Karine	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) Dpt Industrie UR UMR 5525 CNRS EJF EPHE INP ENVL TIMC-IMAG
COMMUN	Loic	MC Contractuel	UP GEGAZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) Dpt Analyses de Laboratoire
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	PR2	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Industrie UR UMR CNRS 5558
DEMONT	Pierre	PR2	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie
DESJARDINS PESSON	Isabelle	MC Contractuel	UP Equine
EGRON-MORAND	Germaine	MC Classe Normale	UP GEGAZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) Dpt Production animale UP Médecine des Carnivores
ESCRIOU	Catherine	MC Classe Normale	Dpt Carnivores UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
FAU	Didier	PR2	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) Dpt Carnivores - UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
FLEURY	Catherine	PR2	UP Equine - Dpt Equine
FOURNEL	Corinne	PR1	UP Pathologie Morphologique et Clinique - Dpt Carnivores UR UPSP 5203 Pathologie Comparée des cellules dendritiques et présentatrices d'antigènes
FRANCK	Michel	PR1	UP GEGAZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) - Dpt Production animale -
FRIKHA	Mohamed-Ridha	MC Classe Normale	UP Pathologie du bétail - Dpt Production animale
GANGL	Monika	MC Contractuel	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Equine
GARNIER	François	PR1	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Carnivores
GENEVOIS	Jean-Pierre	PRX	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Carnivores
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	PR2	UP Biologie Fonctionnelle

ENVL

DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL

Mise à jour : 24/11/2009

Directeur : Stéphane MARTINOT

Nom	Prénom	Grade	
GONTHIER	Alain	MC Classe Normale	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie UR UMR 958 Protozoaires entériques des volailles
GRAIN	Françoise	PR2	UP GEGA ZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) Dpt Analyses de Laboratoire PT Logistique Bureau de la Pédagogie et de la Vie Etudiante Direction Adjoint au directeur - Chargée de la Pédagogie
GRANCHER	Denis	MC Hors Classe	UP GEGA ZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) - Dpt Production animale UR UMR 1233 INRA/ENVL/ISARA Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques Direction Adjoint au directeur - Chargé des relations intérieures
GREZEL	Delphine	MC Classe Normale	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie
GUERIN	Pierre	PR2	UP Reproduction - Dpt Production animale UR UPSP ENVL ISARA Cryoconservation des ressources génétiques par la voie femelle
GUERIN-FAUBLEE	Véronique	MC Classe Normale	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Analyses de Laboratoire UR UMR CNRS 5558
HUGONNARD	Marine	MC Classe Normale	UP Médecine des Carnivores - Dpt Carnivores UR UMR 5557 UCBL CNRS ENVL INRA Ecologie Microbienne
JAUSSAUD	Philippe	PR1	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Industrie PT Laboratoires d'analyses Laboratoire LEPS
JUNOT	Stéphane	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) Dpt Carnivores UR UMR UCBL ENVL ERI 22 (INSERM) Agression Vasculaire Réponse tissulaire
KECK	Gérard	PR1	UP Biologie fonctionnelle Dpt Industrie UR UMR 1233 INRA/ENVL/ISARA Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques
KODJO	Angeli	PR2	UP Santé Publique Vétérinaire Dpt Industrie UR UMR 5557 UCBL CNRS ENVL INRA Ecologie Microbienne
LACHERETZ	Antoine	PR1	UP Santé Publique Vétérinaire Dpt Industrie
LAMBERT	Véronique	MC Classe Normale	UP GEGA ZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) Dpt Analyses de Laboratoire
LE-GRAND	Dominique	MC Hors Classe	UP Pathologie du bétail - Dpt Production animale
LEBLOND	Agnes	PR2	UP Santé Publique Vétérinaire Dpt Equine UMR INRA EPIA - UR 346
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	MC Classe Normale	UP Reproduction - Dpt Equine UR UPSP ENVL ISARA Cryoconservation des ressources génétiques par la voie femelle
LEPAGE	Olivier	PR1	UP Equine - Dpt Equine
LOUKIADIS	Estelle	ISPV	UR UPSP 5201 Microbiologie alimentaire et prévisionnelle
LOUZIER	Vanessa	MC Classe Normale	UP Biologie Fonctionnelle
MARCHAL	Thierry	MC Hors Classe	UP Pathologie Morphologique et Clinique - Dpt Carnivores UR UPSP 5203 Pathologie Comparée des cellules dendritiques et présentatrices d'antigènes
MARTIN	Gillian	PCEA	PT Logistique LANGUES
MIALET	Sylvie	ISPV	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie
MOUNIER	Luc	MC Classe Normale	UP GEGA ZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) - Dpt Production animale UR UMR INRA URH
PIN	Didier	MC Classe Normale	UP Pathologie Morphologique et Clinique - Dpt Carnivores
PONCE	Frédérique	MC Classe Normale	UP Médecine des Carnivores + Dpt Carnivores UR UPSP 5203 Pathologie Comparée des cellules dendritiques et présentatrices d'antigènes
PORTIER	Karine	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Equine
POUZOT	Céline	MC Contractuel	PT CHEV CHEVAC - SIAMU
PROUILLAC	Caroline	MC Classe Normale	PT CHEV UMR 1233 Mycotoxines et toxicologie comparée des xénobiotiques
REMY	Denise	PR2	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Carnivores
RICHARD	Yves	PRX	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie UR UMR 5557 UCBL CNRS ENVL INRA Ecologie Microbienne PT Logistique Bureau de la Recherche Direction Directeur scientifique
ROGER	Thierry	PR1	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Industrie UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux PT ICLB PT Formation continue
SABATIER	Philippe	PR2	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Production animale UR UMR 5525 CNRS EJV EPHE INP ENVL TIMC-IMAG
SAWAYA	Serge	MC Classe Normale	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) Dpt Equine UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
SERGEANT	Delphine	MC Classe Normale	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Industrie UR UPSP 5201 Microbiologie alimentaire et prévisionnelle
THIEBAULT	Jean-Jacques	MC Hors Classe	UP Biologie fonctionnelle - Dpt Carnivores
VIALARD	Jacquemine	MC Hors Classe	UP GEGA ZS (Gestion des élevages : génétique, alimentation, zootechnique et santé) - Dpt Analyses de Laboratoire -
VIGUIER	Eric	PR1	UP ACSAI (Anatomie, Chirurgie, Anesthésiologie, Imagerie, Soins intensifs) - Dpt Carnivores UR UMR UCBL ENVL Réparation tissulaire, interaction biologique et biomatériaux
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	MC Contractuel	UP Pathologie Morphologique et Clinique - Dpt Analyses de Laboratoire
ZENNER	Lionel	PR2	UP Santé Publique Vétérinaire - Dpt Production animale

Remerciements

A Monsieur le Professeur Philippe VANHEMS
De la Faculté de Médecine de Lyon
Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORE
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse
Pour votre disponibilité, vos remarques subtiles et vos précieux conseils
Pour votre enseignement passionné et générateur d'ambitions
Avec toute mon admiration, Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Luc CHABANNE
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de juger mon travail et de participer à ce jury de thèse
Qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

Au Docteur Pierre BERGAMO
Pour avoir accepté avec enthousiasme d'encadrer ce travail
Pour vos conseils avisés et le temps que vous m'avez accordé
Sincères remerciements.

Aux Pr. Delphine GREZEL et Oswald JARRETT, aux Dr Corine BOUCRAUT-BARALON
et Abdelghani BENKHELIL,
Pour leurs renseignements précieux et leur relecture attentive
Sincères remerciements

TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES	11
TABLE DES TABLEAUX	12
TABLE DES ANNEXES	12
ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	15
Première partie : Etude du FeLV	17
I-Caractéristiques du virus	19
1- Classification du FeLV.....	19
2- Morphologie du FeLV.....	19
3- Structure génomique du FeLV.....	20
4- Protéines virales et propriétés biologiques.....	22
a- Protéines d'enveloppe	22
i- La glycoprotéine gp70.....	22
ii- La protéine p15E	26
b- Protéines de la capside	26
i- Les protéines de structure interne.....	26
ii- Les protéines enzymatiques.....	27
iii- L'antigène de membrane associé aux oncornavirus félines (FOCMA)	28
II Réplication du virus	28
1- Pénétration de la cellule-hôte	28
2- Décapsidation.....	29
3- Transcription inverse de l'ARN viral.....	29
4- Intégration du provirus.....	29
5- Transcription du provirus et synthèse de protéines	30
6- Assemblage du virion	30
III Epidémiologie	31
1- Distribution et prévalence de la maladie	31
2- Transmission.....	32
3- Influence du lieu de vie de l'animal	32
4- Facteurs intrinsèques	32
IV Pathogénie	33

1- Etapes de l'infection	33
2- Issues de l'infection	34
a- Catégorie 1 – virémie permanente	34
b- Catégorie 2 – infection régressive	35
c- Catégorie 3 – virémie transitoire	36
d- Catégorie 4 – infection atypique.....	36
3- Réponse immunitaire du chat vis-à-vis du FeLV	37
a- Réponse immunitaire à médiation humorale	37
i- Les anticorps antiviraux	38
1- Les anticorps séro-neutralisants : AcSN	38
2- Autres anticorps anti-viraux.....	39
ii- Les anticorps anti-FOCMA	40
iii- Le complément.....	40
b- Réponse immunitaire à médiation cellulaire	41
i- Nature et rôle des cellules impliquées dans la réponse à médiation cellulaire	41
ii- Action immunosuppressive du virus sur la réponse à médiation cellulaire.....	45
c- Conséquences	47
4- Affections dues au FeLV.....	47
a- Maladies tumorales.....	47
i- Tumeurs lymphoïdes solides : lymphomes	47
ii- Tumeurs lymphoïdes diffuses (leucémies) et myélodysplasies.....	50
iii- Fibrosarcomes	51
iv- Ostéochondromes	51
b- Maladies non tumorales.....	51
i- Dépression immunitaire	51
ii- Anémies.....	52
iii- Thrombopénies.....	53
iv- Leucopénies.....	53
v- Dégénérescence des tissus lymphoïdes	54
vi- Myélofibrose	54
vii- Atteintes de l'appareil reproducteur	54
viii- Neuropathies	55
ix- Maladies secondaires à l'infection	55
x- Glomérulonéphrites et polyarthrites	56
xi- Maladies de l'appareil digestif.....	56
V Conclusion.....	57

Deuxième partie : Diagnostic et validité des tests de détection	59
I Diagnostic clinique.....	61
II Diagnostic de laboratoire.....	61
1- Les différents tests	61
a- Méthodes de détection directes	68
i- Observation du virus par microscopie électronique	68
ii- Isolement viral.....	68
1- Sur culture cellulaire QN10	68
2- Sur culture de cellules de moelle osseuse	69
iii- Recherche de l'antigène p27	69
1- Immunodiffusion	70
2- ELISA.....	70
3- Immunofluorescence indirecte (IFI)	74
4- Immunochromatographie / immunomigration rapide (RIM).....	76
iv- Mise en évidence de l'acide nucléique viral.....	79
1- Hybridation moléculaire	79
2- Recherche de l'ADN proviral par PCR.....	79
a- Principe de la PCR.....	80
b- Protocole de réalisation	81
c- Type d'acide nucléotidique amplifié	83
d- Choix de la séquence à amplifier et des amorces	83
e- Réalisation des prélèvements et extraction de l'ADN	85
f- Détection des produits d'amplification	85
g- Sensibilité et spécificité de la PCR.....	86
h- Avantages et inconvénients	86
i- Variante de la PCR : nested-PCR (PCR nichée)	87
j- La PCR en temps réel (real time PCR).....	88
3- Recherche de l'ARN viral par RT-PCR.....	89
b- Méthodes de détection indirectes	90
i- Recherche des anticorps anti-gp70 (AcSN)	91
ii- Recherche des anticorps anti-FOCMA.....	91
2- Comparaison des tests	91
a- IFI/ELISA.....	91
b- ELISA/RIM.....	92
c- PCR/RT-PCR	93
3- Conclusion : avantages/inconvénients de chaque test, utilisation pratique	94

Troisième partie : Interprétation des tests et démarche diagnostique.....	97
I- Interprétation des tests	99
1- Importance de l'état de santé et des commémoratifs de l'animal.....	99
2- Interprétation d'un test ELISA ou RIM	99
a- Interprétation d'un résultat positif.....	99
b- Interprétation d'un résultat négatif.....	101
3- Interprétation d'un test IFI.....	101
a- Interprétation d'un résultat positif.....	101
b- Interprétation d'un résultat négatif.....	102
4- Interprétation d'un test PCR.....	102
a- Interprétation d'un résultat positif.....	102
b- Interprétation d'un résultat négatif.....	104
4- Interprétation d'un test RT-PCR	104
a- Interprétation d'un résultat positif.....	105
b- Interprétation d'un résultat négatif.....	105
II- Synthèse : localisation du virus et résultat des méthodes de détection	106
III- Modus operandi du praticien	107
1- Questionnement du propriétaire.....	108
a- Age de l'animal	108
b- Conditions de vie du chat	108
c- Antécédents médicaux.....	108
d- Conclusion.....	108
2- Examen clinique	109
3- Réalisation d'un test rapide (ELISA ou RIM).....	109
a- Conduite à tenir en absence de signes cliniques.....	109
i- Résultat du test rapide positif.....	110
ii- Résultat du test rapide négatif	111
b- Conduite à tenir en présence de signes cliniques	111
i- Résultat du test rapide positif.....	112
ii- Résultat du test rapide négatif	112
4- Analyse par PCR (en temps réel).....	113
5- Test rapide 12 semaines après le premier test	114
IV Conduite à tenir après le diagnostic.....	114
1- Le jour de la consultation	114
a- Chat non infecté.....	114
b- Diagnostic non établi.....	115

2- Diagnostic lors du contrôle 12 semaines plus tard ou après analyse PCR	115
a- Non infecté	115
b- Virémique persistant.....	115
i- Conduite à tenir face à un chat FeLV+ symptomatique	115
ii- Conduite à tenir face à un chat FeLV+ asymptomatique	116
c- Infection latente	117
d- Infection régressive	117
e- Infection transitoire	117
f- Infection atypique.....	118
3- Conclusion.....	118
CONCLUSION.....	Erreur ! Signet non défini.
BIBLIOGRAPHIE.....	129

TABLE DES FIGURES

Figure 1: Production et libération de FeLV par une cellule féline transformée	20
Figure 2: Prévalence de l'infection par le FeLV selon l'état de santé du chat.....	31
Figure 3: Origines des lignées cellulaires dans les désordres myéloprolifératifs	50
Figure 4: Principe de l'ELISA	71
Figure 5: Protocole de réalisation du test ELISA ViraCHEK® FeLV	73
Figure 6: Principe de l'immunofluorescence indirecte.....	74
Figure 7: Composants du test Witness® FeLV	76
Figure 8: Migration lors du test Witness® FeLV.....	77
Figure 9: Principe du test Witness® FeLV	78
Figure 10: Protocole de réalisation de la PCR	82
Figure 11: Principe de l'amplification par PCR	83
Figure 12: Localisation des amorces et de la zone à amplifier sur le génome du FeLV (exemples d'amorces)	84
Figure 13: Variations des résultats des tests ELISA et IF selon l'état virémique de l'animal et la durée d'évolution	92
Figure 14: Cinétique des taux d'ADN proviral et des taux plasmatique d'ARN viral chez les chats selon les issues de l'infection	93
Figure 15: Modalités de l'infection par le FeLV chez le chat	107
Figure 16: Conduite à tenir en absence de signes cliniques d'une infection par le FeLV	110
Figure 17: Conduite à tenir en présence de signes cliniques d'une infection par le FeLV	112

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Mécanisme des anémies chez les chats infectés par le FeLV	53
Tableau 2 : Effet de la prévalence sur la valeur prédictive d'un test (sensibilité et spécificité fixées à 95%).....	67
Tableau 3: Spécificité et sensibilité de différents tests du commerce	78
Tableau 4: Avantages et inconvénients des tests disponibles	95
Tableau 5: Localisation du virus et résultats des méthodes de détection.....	106
Tableau 6: Interprétation d'un test rapide 12 semaines après la première consultation	114

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des affections liées au FeLV.....	121
Annexe 2 : Protocole de recherche des anticorps séro-neutralisants	128

ABREVIATIONS

Ac : anticorps

AcSN : anticorps séro-neutralisants

ADCC : Antibody Dependent Cell Cytotoxicity

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNc : acide désoxyribonucléique complémentaire

Ag : antigène

AH927 : cellules embryonnaires de fibroblastes félines

ARN : acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messenger

CBH : Claude Bernard Horner

CD : cluster of differentiation

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CTL : lymphocyte T cytotoxique

ECP : Effet Cyto-Pathogène

EDTA : acide Ethylène Diamine Tétracétique (anticoagulant)

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

env : Enveloppe

FeLIX : FeLV infectivity X-accessory protein

FeLV : Feline Leukemia Virus, virus leucémogène félin

FeLV-FAIDS : souche de FeLV particulière

FePit1 : transporteur spécifique du FeLV-T

FeSV : Feline Sarcoma Virus, virus sarcomatogène félin

FIV : Feline Immunodeficiency virus, virus de l'immunodéficience féline

FN : faux négatif

FOCMA : Feline Oncornavirus-associated Cell-Membrane Antigen, antigène de membrane associé aux oncornavirus félines

FP : faux positif

gag : Groupe Associated Gene

GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue, tissu lymphoïde associé au tube digestif

gp70 : glycoprotéine 70

GSA : Group Specific Antigen

HRP : Horse Radish Peroxydase

IF(I) : Immunofluorescence (indirecte)

IFN : interféron

Ig : immunoglobuline, anticorps

IL : interleukine

kDa : kilo Dalton

KIR : Killing Inhibitor Receptor

LTR : Long Terminal Repeat
LT : lymphocyte T
MAF : Macrophage Activating Factor
MuLV : Murine Leukemia Virus, virus leucémogène murin
NK : Natural Killer
p10 : protéine 10
p12 : protéine 12
p15C : protéine 15 C
p15E : protéine 15 E
p27 : protéine 27
p45 : protéine 45
PCR : Polymerase Chain Reaction, réaction de polymérisation en chaîne
PIF : Péritonite Infectieuse Féline
pol : Polymérase
QN10 : type de cellule utilisé pour l'isolement viral
RFc : Récepteur du fragment Fc d'immunoglobulines
RIM : Rapid Immuno-Migration, immunomigration rapide
RT : Reverse Transcriptase, transcriptase inverse
RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR
sarc : gène cellulaire
Se : Sensibilité
Sp : Spécificité
SPF : Specific Pathogen Free, exempt d'organisme pathogène spécifique
T-GAL : Antigène T dépendant
TCR : sous population spécifique de lymphocytes T
Th : lymphocyte T « helper »
TNF : Tumor Necrosis Factor, facteur de nécrose tumorale
Treg : lymphocyte T « regulator »
Ts : lymphocytes T « suppressor »
VPN : Valeur Prédictive Négative
VPP : Valeur Prédictive Positive

INTRODUCTION

Découverte en 1964, l'infection par le FeLV est classiquement considérée comme la maladie infectieuse du chat la plus préoccupante, avec un impact plus grand que l'infection par le FIV.

Si l'application du programme « dépistage-élimination des positifs » et la vaccination massive ont permis d'améliorer la situation des élevages, l'infection demeure fréquente, particulièrement dans les chatteries. De plus, l'infection par le FeLV est souvent impliquée dans un grand nombre d'affections chroniques, diminuant fortement le pronostic vital, c'est pourquoi il est important pour le praticien d'établir un diagnostic précis le plus rapidement possible.

Cette thèse propose une réflexion concernant le diagnostic du FeLV et le *modus operandi* du praticien au cours de ses consultations.

Après une première partie consacrée à l'étude du virus à proprement parler ainsi que de sa pathogénie et des maladies qui lui sont associées, nous décrirons les méthodes diagnostiques existantes ou ayant existé. Enfin nous synthétiserons ces données afin d'en ressortir une démarche diagnostique dichotomique face à un animal suspect de FeLV.

Première partie

Etude du FeLV

I- Caractéristiques du virus

1- Classification du FeLV

Le virus leucémogène félin, plus communément appelé FeLV, est un virus à ARN enveloppé appartenant à la famille des *Retroviridae*, genre *Gammaretrovirus* (également appelé rétrovirus de type C). Les *Retroviridae* sont caractérisés par une rétro-transcriptase (ou transcriptase inverse) qui permet la synthèse d'une double hélice d'ADN à partir de l'ARN viral ainsi que d'une intégrase qui permet l'intégration de l'ADN formé au sein de la cellule.

Cette famille de virus est également associée à une notion de latence, en intégrant le génome viral à celui de l'hôte. Cependant, il persiste toujours une faible réplication virale détectable par PCR en temps réel, mais trop faible pour induire une antigénémie détectable³⁴.

Enfin, les rétrovirus ont la particularité de se multiplier uniquement dans les cellules en division.

2- Morphologie du FeLV

Virus classique de sa famille, le FeLV est composé d'une enveloppe externe et d'une enveloppe interne qui entoure la nucléocapside. Il mesure 100 à 110nm de diamètre⁷⁴.

L'enveloppe externe est issue du bourgeonnement de la membrane plasmique de la cellule hôte, elle est donc constituée de lipides et de glycoprotéines. Elle contient notamment une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 70kDa, la gp70 ou antigène majeur d'enveloppe, qui forme des sphères disposées sur des spicules dérivées de la protéine mineure d'enveloppe, la p15E, de poids moléculaire 15kDa. L'insertion des spicules au sein de l'enveloppe externe est réalisée par des ponts disulfures⁷⁴.

L'enveloppe interne est constituée de protéines acides de poids moléculaire 12kDa, les protéines p12. Cette enveloppe recouvre la nucléocapside icosaédrique, de diamètre 75nm.

La nucléocapside est constituée d'un noyau, l'ARN viral qui est enroulé et protégé des nucléases par des protéines rangées en hexagone formant la capside. Ces protéines sont nommées p10 (10kDa), p15C (15kDa) et p27(27kDa), qui est également nommée protéine majeure du core. Ce complexe riboprotéique contient également la reverse transcriptase, que nous étudierons plus loin ⁷⁴.

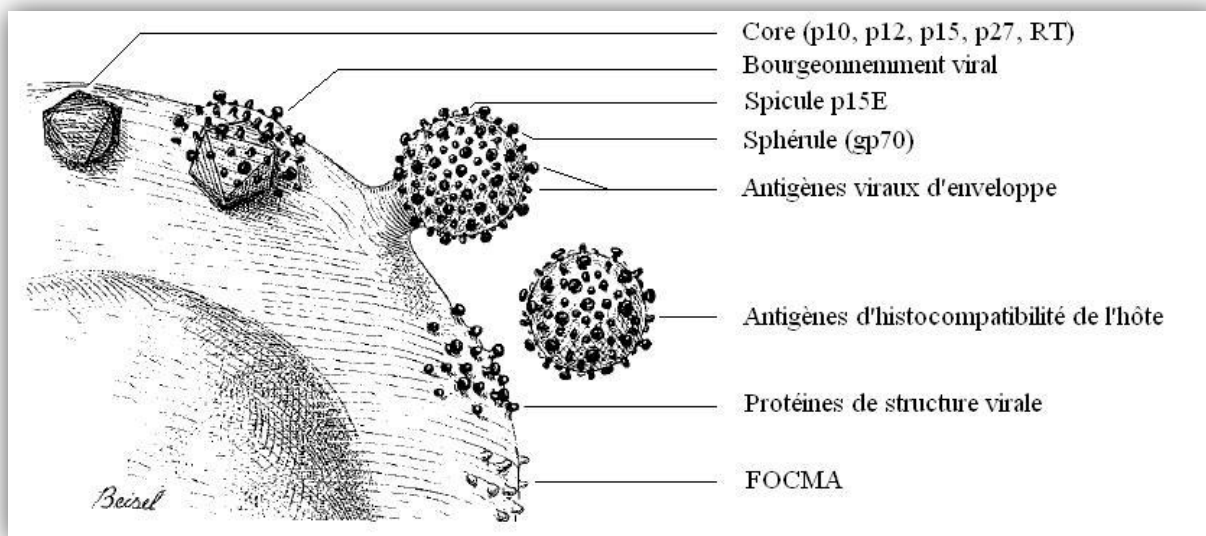


Figure 1: Production et libération de FeLV par une cellule féline transformée ¹⁸

3- Structure génomique du FeLV

a. FeLV exogène

Le FeLV exogène est le FeLV que nous étudierons au cours de cet exposé, il s'agit du virus à proprement parler.

Le génome viral se présente sous la forme d'un dimère inversé d'ARN monocaténaire linéaire de sens positif : il peut donc théoriquement être lu directement par les ribosomes de la cellule infectée, sans nécessiter de transcription préalable. Les deux sous-unités identiques sont liées au niveau de leur extrémité 5'. Chaque sous-unité d'ARN est constituée d'une séquence polyadénylée d'environ 200 nucléotides en 3' et d'une coiffe en 5'. La longueur totale du génome est d'environ 9600 paires de bases ⁶⁰.

Le virus leucémogène félin est capable de se multiplier *in vitro* dans les cellules de l'hôte d'origine, il est donc dit écotrope. Il possède également tous les gènes nécessaires à sa réplication, c'est un virus compétent ⁷⁴.

La structure génétique est caractéristique des rétrovirus avec la succession de 3 gènes selon l'orientation 5'-3' : *gag-pol-env*- ^{41,74}:

- Le gène *gag* : « Group Associated Gene » : il s'agit d'une région de 2kbases codant une polyprotéine qui, une fois découpée, donne les protéines internes structurales du virion, à savoir p10, p12, p15C, p27 ainsi que l'enzyme répliquative. C'est le gène le plus stable du génome du FeLV.
- Le gène *pol* : « Polymérase » : c'est une région de 3kbases codant la reverse transcriptase
- Le gène *env* : « Enveloppe » : il s'agit d'une région de 3kbases codant les précurseurs des composants viraux de l'enveloppe externe qui seront glycosylés puis clivés pour former la gp70 et la p15E

De part et d'autre de ces gènes se trouve une séquence de bases non codante appelée LTR (Long Terminal Repeat). Cette séquence assure le contrôle des répliquations et a un rôle fondamental de promoteur dans le déclenchement et le maintien de la transcription des gènes proviraux ⁵⁵. Cette séquence est constituée de bases uniques désignées U5 en 5' et U3 en 3' et de bases redondantes désignées R. Les séquences promotrices (TATA box) ne sont actives qu'au niveau du LTR en 5', car elles nécessitent la présence de régions régulatrices de la transcription, localisées en aval dans le début de la phase codante. En revanche, les sites de polyadénylation ne sont actifs qu'au niveau du LTR en 3', car ils nécessitent la présence de régions régulatrices présentes uniquement dans la partie 3' ⁶⁴.

b. FeLV endogène

Le génome du chat domestique contient 2 séquences d'ADN homologues à celles de deux rétrovirus distincts dont le FeLV. Ce sont des séquences intégrées de façon stable

dans le génome cellulaire et qui se comportent comme n'importe quel autre gène cellulaire. Ainsi, le génome haploïde de chat peut posséder jusqu'à 108 copies du FeLV endogène⁶⁴.

Le FeLV endogène se distingue du FeLV exogène par l'absence de la région U3 de la séquence LTR.

Les scientifiques supposent que le FeLV endogène est apparu il y a des milliers d'années de chats ayant ingurgité des souris infectées par un virus leucémogène murin (MuLV) capable d'intégrer son génome dans celui des cellules des lignées germinales du prédateur. Ce MuLV fut ensuite transmis à toute la descendance puis a muté au fil des générations. La quantité de FeLV endogène varie selon les races de chats (incluant le chat sauvage, *Felis silvestris silvestris*), suggérant que l'exposition au MuLV fut un phénomène continu^{41,79}.

Il a été montré que les chats infectés par le FeLV exogène présentaient des charges en FeLV endogène supérieures aux chats sains⁷⁹. Ceci suggère que le FeLV endogène puisse avoir un rôle dans l'infection par le FeLV exogène.

4- Protéines virales et propriétés biologiques

a- Protéines d'enveloppe

i- La glycoprotéine gp70

Il s'agit de l'antigène majeur d'enveloppe. Elle est nécessaire à l'adsorption de la particule virale à la membrane cytoplasmique de la cellule-hôte.

La gp70 a un rôle immunogène, car des épitopes complexes de cet antigène sont capables d'induire une réponse immunitaire spécifique. Les anticorps (qu'on appelle séro-neutralisants) ainsi produits réagissent alors avec le site de fixation de la gp70, empêchant la fixation du virus sur la cellule-hôte : il y a alors perte du pouvoir infectieux⁶².

La gp70 est sensible à la chaleur (3min à 56°C), la dessiccation et aux rayons ultraviolets : elle se détache du virus, annihilant ainsi son pouvoir infectieux⁶².

En surface, la gp70 possède une fraction non glycosylée de p45 : on définit alors 4 sous-groupes à partir de cette protéine :

- A, qui est majoritaire, toujours présent et antigéniquement stable. Il ne se réplique que sur cellules félines, et dans les conditions naturelles, il assure la transmission entre chats, l'induction de la virémie et l'infection latente⁶⁹.
- B, C et T, qui dérivent du sous-groupe A par mutations et/ou recombinaisons.

Les virémies persistantes sont dues au FeLV-A dans 50% des cas, à un mélange combiné de FeLV-A et B dans 49% des cas, et enfin à un mélange combiné de FeLV-A et C, ou A, B et C dans 1% des cas. Le sous-groupe T a la particularité d'avoir un tropisme préférentiellement dirigé contre les lymphocytes T¹⁶.

Ces 3 sous-groupes déterminent la contagiosité, le pouvoir pathogène, la réceptivité du chat et la stimulation de la réponse immunitaire séro-neutralisante : ils peuvent également influencer la nature et la gravité d'une éventuelle maladie FeLV induite⁷⁴.

Origine des sérotypes B et C :⁹

Le fait que seul le sous-groupe A puisse être isolé sous forme non associée aux autres sous-groupes a conduit aux hypothèses suivantes :

- Le FeLV-B et FeLV-C sont engendrés par mutation du sérotype A.
- Le FeLV-B et FeLV-C sont issus du FeLV-A par recombinaison (dans la moelle osseuse ou les ganglions), avec des séquences endogènes préexistantes de l'ADN félin directement reliées au FeLV.

Des travaux⁹ semblaient plutôt confirmer la 2^e hypothèse :

- On a pu mettre en évidence dans toutes les cellules de chat des séquences non infectieuses reliées à celles du FeLV-C.
- Le FeLV-B et C isolés sont toujours hétérotypiques, c'est-à-dire qu'ils contiennent de nombreux variants antigéniques, comme si des antigènes nouveaux émergeaient suite à des infections individuelles.

- En inoculant le sérotype A seul, il est possible de détecter dans le plasma et/ou dans les tumeurs induites les sérotypes B et C après un certain délai.

Finalement, il s'est révélé que les FeLV-B et C avaient des origines différentes :

- Le FeLV-B est issu du FeLV-A par recombinaison avec des séquences de FeLV endogène : il est par conséquent très variable antigénétiquement ^{67,69}.
- Le FeLV-C résulte de mutations sur la séquence *env* du FeLV-A ⁴¹.

Le sous-groupe B : ⁶⁷

Contrairement au FeLV-A dont il est issu, le FeLV-B peut être cultivé *in vitro* sur les cellules de plusieurs espèces, mais ses capacités répliquatives *in vivo* sont diminuées par rapport au type A. Il est présent dans 40% des isolats, et systématiquement associé au FeLV-A ⁶⁹.

On peut noter une synergie entre les sérotypes A et B. En effet, lorsqu'on inocule des chatons sensibles avec un mélange des souches A et B, on induit dans 85% des cas une virémie, une immunodépression et des lymphomes du thymus ⁹. Il semblerait donc que le FeLV-B augmente le pouvoir pathogène du FeLV-A, ainsi que la fréquence de lymphomes ^{12,69}.

Le sous-groupe C :

Ce sous-groupe, minoritaire, est présent dans 1 à 5% des isolats, et toujours avec le FeLV-A, accompagné parfois du FeLV-B. Il induit des anémies aplasiques fatales chez le chaton et de pronostic très réservé chez l'adulte, par infection des précurseurs de la lignée érythrocytaire, résultant en une hypoplasie voire une aplasie de la moelle osseuse ^{12,69} (*cf.* 1^{ère} partie, IV-4-b-ii).

Le sous-groupe T : ¹⁶

Le FeLV-T fut le premier exemple identifié de rétrovirus naturel nécessitant deux protéines de son hôte pour s'adsorber et infecter la cellule, ce qui est inhabituel parmi les *Gammaretroviridae*. Il fut identifié sur la base de différences séquentielles dans la gp70 et sur ses interactions avec son récepteur ³⁶.

En effet, le FeLV-T requiert un transporteur spécifique (FePit1), tout comme le FeLV-A, dont il est issu, mais également un cofacteur soluble, une protéine d'enveloppe nommée FeLIX (FeLV infectivity X-essory protein), codée par des séquences du FeLV endogène ⁷⁸.

Le FeLV-T est issu du FeLV-A via des mutations et insertions dans le gène *env*, codant la gp70 ³⁶.

Le sous-groupe T fut originellement identifié comme ayant un tropisme envers les lymphocytes T par l'équipe de Donahue en 1991, ce qui était justifié par le fait que le cofacteur endogène FeLIX est exprimé au plus haut point par les lymphocytes T (par rapport aux autres cellules).

De récentes études ¹⁶ suggèrent que toute cellule féline infectée par un autre type de FeLV (en particulier FeLV-A ou C) est une cible préférentielle pour l'infection par le FeLV-T.

Le FeLV-T ne crée pas d'interférence de « super-infection » avec les autres sous groupes de FeLV, probablement en raison de la nature unique de ses besoins en récepteur et cofacteur, ce qui a pour conséquence, pour les cellules co-infectées, d'accumuler un grand nombre de copies du FeLV-T, engendrant un effet cytopathique beaucoup plus important.

Il existe en réalité un grand nombre de souches distinctes en raison d'une grande fréquence de mutations et de recombinaisons au sein du génome (surtout concernant le FeLV-B), mais malgré les variations de séquence primaire de la gp70, cette dernière montre une grande stabilité dans sa structure, et ainsi la spécificité du récepteur de surface reste identique ⁴⁰, par contraste avec le FIV dont la glycoprotéine subit de fréquents changements de structure ⁷⁹.

ii- La protéine p15E

Il s'agit d'une protéine thermostable induisant une immunodépression (accompagnant la virémie d'origine médullaire)⁵⁹. Les propriétés immuno-suppressives de la p15E sont semblables à celles du virion tué : elle stimule la croissance tumorale et diminue la réponse immunitaire contre le FOCMA (Feline Oncornavirus-associated Cell-Membrane Antigene). Son action est dirigée contre les lymphocytes T helper dont elle déprime l'activité. Elle diminue également l'excrétion d'interleukine 2 (IL2) par les lymphocytes ainsi que la réceptivité des cellules compétentes à cette interleukine⁵⁹.

Il est intéressant de noter que le caractère immunosuppresseur de la p15E n'a été observé qu'*in vitro* et jamais *in vivo*⁷⁹.

Enfin, la p15E est capable de se lier au premier composant du complément, et ainsi d'activer la voie classique du complément, entraînant une hypocomplémentémie rendant le processus de virolyse inefficace¹⁰.

b- Protéines de la capsid

i- Les protéines de structure interne

Le FeLV est un *Gammaretrovirus*. De ce fait, il est composé de 4 protéines de structure interne précédemment listées : p27, p15C, p12 et p10. Cette dernière est fortement liée à l'ADN viral qu'elle entoure²⁷.

Les protéines de structure interne du FeLV sont produites en excès dans le cytoplasme des cellules infectées. La plupart ne sont pas intégrées dans les particules virales et restent dans la cellule, ou se solubilisent dans le plasma^{28,74}. Ces protéines constituent ainsi des antigènes détectables par la méthode d'immunofluorescence indirecte (IFI) dans le cytoplasme des cellules infectées (polynucléaires neutrophiles et plaquettes circulants) et par les méthodes ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) ou RIM (Rapid Immuno-Migration) dans le milieu extracellulaire (sang, plasma, liquide d'épanchement). La présence d'antigène du FeLV au sein d'une cellule implique toujours que cette cellule produise du virus infectieux^{28,74}.

L'antigène majeur de la nucléocapside est la protéine p27 : elle est le support d'une activité antigénique croisée entre les sous-groupes de FeLV, elle est nommée antigène spécifique de groupe, ou GSA (Group Specific Antigen) ^{28,74}. La plupart des tests de détection décrits ci-après sont fondés sur la mise en évidence de cet antigène.

Les autres protéines du core ne jouent pas un rôle important. Cependant, elles sont impliquées dans la formation de complexes immuns précipitant dans les glomérules rénaux, à l'origine de glomérulonéphrite ^{28,74}.

ii- Les protéines enzymatiques

1- La reverse transcriptase : RT

La reverse transcriptase est une ADN polymérase ARN dépendante, elle permet de transcrire l'ARN viral monocaténaire en un ADN monocaténaire complémentaire ²⁸.

L'existence de mutants viraux thermosensibles et de mutants par délétion portant sur cette enzyme montre que la reverse transcriptase est nécessaire à la synthèse du provirus, au démarrage de la réplication virale ainsi qu'à l'éventuelle transformation de la cellule-hôte ¹⁰.

Certains chats exposés au FeLV produisent des anticorps anti-reverse transcriptase ⁴⁴.

2- Autres enzymes virales

Elles interviennent aux stades successifs de la réplication virale. Une ADN polymérase ADN dépendante permet la transformation de l'ADN monocaténaire en ADN bicaténaire ou provirus. Des endonucléases et ligases permettent l'intégration du provirus dans le génome cellulaire ¹⁰.

Des anticorps dirigés contre la polymérase inhibent la réplication du FeLV et ralentissent l'infection *in vivo* ⁴⁴.

iii- L'antigène de membrane associé aux oncornavirus félines (FOCMA)

Ce néoantigène de membrane s'exprime à la surface des cellules hématopoïétiques et lymphoïdes qui ont subi la transformation maligne sous l'effet de l'infection virale. En effet, le FeLV a un pouvoir oncogène, sans pour autant posséder de gène oncogène à proprement parler ⁷⁹.

Le FOCMA est une protéine de 70 kDa différente de la gp70 : l'expression de ces deux antigènes est indépendante : les cellules infectées non transformées expriment la gp70 alors que les cellules transformées non productives expriment seulement le FOCMA ¹⁰.

Le FOCMA serait d'origine virale et non cellulaire. Actuellement, on pense qu'il représenterait les antigènes du FeLV endogène exprimés en surface des cellules transformées par le FeLV. Certaines études suggèrent que ces antigènes endogènes seraient liés aux glycoprotéines d'enveloppe du FeLV-B tandis que d'autres suggèrent que le FOCMA serait étroitement lié (mais non identique) aux glycoprotéines d'enveloppe du FeLV-C ¹⁰.

II Réplication du virus ^{10,18,69}

Le FeLV est un virus compétent, ce qui signifie qu'il possède l'ensemble des gènes nécessaires à sa réplication et peut, ainsi, boucler un cycle complet de réplication.

1- Pénétration de la cellule-hôte

Elle nécessite l'interaction de la glycoprotéine d'enveloppe, la gp70, avec les récepteurs spécifiques à la surface de la cellule. Les cellules possédant ce type de récepteur sont dites « sensibles ». Il s'agit principalement des cellules lymphoïdes, qu'elles soient matures (lymphocytes B et T, macrophages) ou immatures (précurseurs des lignées lymphoïdes dans la moelle osseuse, cellules du tissu lymphoïde systémique, en particulier associé au tube digestif), mais également des précurseurs

des cellules hématopoïétiques non lymphoïdes, telles que les lignées myélomonocytaires et érythropoïétiques.

Cette liaison glycoprotéine-récepteur assure la fusion de l'enveloppe virale à la membrane cellulaire. Le FeLV pénètre dans le cytoplasme : il est débarrassé de son enveloppe interne, ce qui permet la libération de l'ARN viral.

2- Décapsidation

Si la cellule ne fournit pas les enzymes nécessaires à la décapsidation, il y a blocage du cycle ce qui correspond à une protection antivirale absolue et définit la permissivité de la cellule-hôte.

3- Transcription inverse de l'ARN viral

L'ARN viral libéré dans le cytoplasme de la cellule-hôte est copié en un brin d'ADN complémentaire grâce à la reverse transcriptase (RT). Cette synthèse est initiée par un ARN de transfert de la cellule-hôte. Cet ADN synthétisé sert de modèle pour la formation d'un ADN bicaténaire grâce à l'ADN polymérase ADN dépendante.

4- Intégration du provirus

Cette copie d'ADN bicaténaire néoformée, également appelée provirus, s'intègre au génome cellulaire grâce aux endonucléases et aux ligases virales. La synthèse et l'intégration du provirus se produisent seulement dans les cellules qui synthétisent de l'ADN. La réplication virale est maximale dans les cellules indifférenciées à multiplication rapide. Quarante à cinquante provirus peuvent ainsi s'intégrer au génome cellulaire.

L'intégration des provirus à des sites variés peut provoquer l'inactivation ou l'activation de certains gènes cellulaires, ce qui pourrait expliquer les mécanismes d'oncogenèse²³.

Le provirus peut produire, en se recombinant au gène cellulaire nommé *sarc*, présent dans toutes les cellules de chat, un virus défectif, incapable de réplication, à haut pouvoir transformant, le Feline Sarcoma Virus (FeSV) qui induit la transformation des fibroblastes à l'origine de l'apparition de fibrosarcomes. La réplication du FeSV nécessite le FeLV comme virus auxiliaire : les lacunes du FeSV sont suppléées par le génome du FeLV. Le provirus peut déclencher l'infection productive de la cellule, c'est-à-dire la synthèse des protéines virales puis l'assemblage et la maturation des virions. Le FeSV est répandu dans le monde entier, mais reste rare. Les tumeurs contenant à la fois le FeLV et le FeSV sont transmissibles expérimentalement, mais ceci n'a pas été prouvé en conditions naturelles ⁷⁹.

Enfin, le provirus peut rester quiescent au sein du génome cellulaire (phase de latence) mais peut être réactivé à tout moment. En l'absence d'expression du virus, il y a absence de réaction immunitaire.

5- Transcription du provirus et synthèse de protéines

L'ARN viral est transcrit à partir du provirus intégré par l'enzyme ARN polymérase ADN dépendante fournie par la cellule en un ARNm (messager) afin de produire les précurseurs des protéines virales.

6- Assemblage du virion

Les protéines migrent vers la membrane plasmique de la cellule-hôte où elles initient l'évagination du bourgeon viral. En périphérie, les précurseurs de l'enveloppe sont clivés : la protéine mineure d'enveloppe, la p15E, franchit la membrane plasmique et forme des spicules. Les sphères protubérantes représentant la protéine majeure d'enveloppe sont glycosylées pour former la gp70. Ces glycoprotéines s'unissent aux spicules par des ponts disulfures. Au centre, les précurseurs structuraux sont transformés en protéines qui s'associent pour former avec l'ARN viral la capsidie ribonucléoprotéique.

III Epidémiologie

1- Distribution et prévalence de la maladie

Depuis sa découverte en 1964 en Ecosse par le Pr Jarrett, le FeLV a pu être mis en évidence dans tous les pays où il a été recherché ^{5,46,47}. L'incidence de l'infection par le FeLV est directement liée à la densité de la population féline et au mode de vie des animaux. Elle est d'environ 2 à 5% chez les chats sains (2,3% selon une récente étude en Amérique du Nord ^{53,76}) mais est particulièrement élevée chez les autres (de 11,3 à 19,4% suivant les pays) ²⁴. En collectivité sans contrôle à l'entrée de l'état virémique des chats, la prévalence peut être supérieure à 20% ⁴¹.

Depuis les 25 dernières années, la prévalence et l'importance de l'infection par le FeLV en Europe ont diminué de manière significative par l'emploi massif de tests de détection fiables ainsi que de vaccins de plus en plus efficaces ^{41,54}.

La prévalence est globalement faible chez les chats sains, mais très élevée chez les chats malades (entre 15 et 20% selon les sources) ^{5,41}.

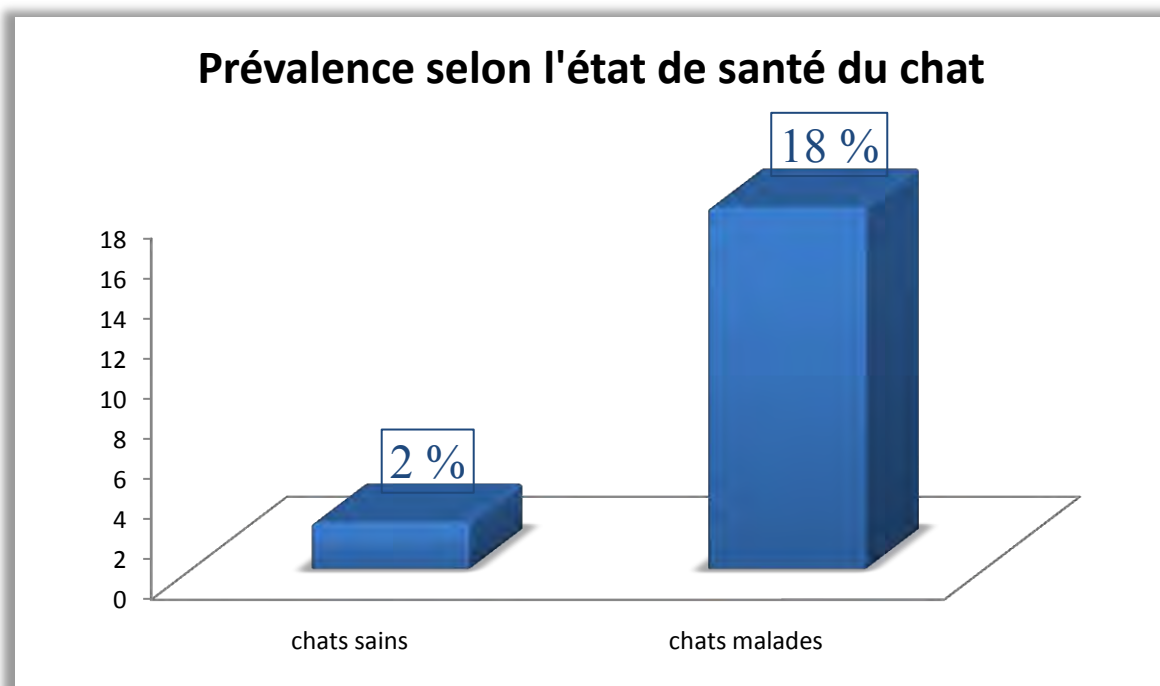


Figure 2: Prévalence de l'infection par le FeLV selon l'état de santé du chat

2- Transmission

Les animaux excréteurs sont les virémiques persistants et transitoires (ceux pour lesquels la virémie est précoce et ne dure que quelques jours).

La transmission du FeLV ne nécessite pas de plaie pour s'effectuer. Un contact intime entre les chats suffit, le virus étant présent dans la salive, les larmes et l'urine essentiellement mais aussi dans les fèces, le lait⁶⁵, le sang et dans toutes les sécrétions organiques^{24,62}. Un millilitre de salive de chat infecté persistant peut alors contenir jusqu'à un million de particules virales⁷⁵.

Généralement, la contamination se fait donc par léchages et contact entre les chats (le partage de gamelles et de litières est suffisant) mais elle peut aussi se faire par morsures, griffures, accouplement, allaitement, transfusion sanguine et *in utero*^{21,65}. La transmission par les gamètes n'est pas prouvée^{24,31,62}.

3- Influence du lieu de vie de l'animal

La vie en collectivité (surtout sans contrôle à l'entrée) est le facteur favorisant principal. Viennent ensuite les facteurs favorisant les contacts entre individus : animaux non stérilisés, vivant en extérieur (surtout à la campagne), partage de gamelle, sont autant de facteurs de risque de transmission du virus^{8,41}.

4- Facteurs intrinsèques

Les chats présentant la plus forte réceptivité sont les jeunes chats (surtout ceux de moins de 4 mois). L'âge moyen des chats FeLV+ est de 3-4ans^{5,54}. Une résistance partielle à l'infection se développe avec l'âge⁵⁴. Le taux d'infection chez les chats de plus de 6 ans et les données expérimentales montrent cependant que les adultes conservent une sensibilité à l'infection^{8,24}.

Le sexe n'a pas de grande influence puisque la transmission du FeLV se fait essentiellement par léchage. Néanmoins, on peut remarquer que les chats mâles sont un peu plus touchés que les femelles (52 à 61% des chats testés positifs)^{8,22,31}.

La race n'a pas d'influence propre sur la sensibilité du sujet, tout dépendra des conditions de vie de l'animal.

IV Pathogénie

1- Etapes de l'infection

Les expériences réalisées par Rojko en 1979^{70,71} ont permis de comprendre la pathogénie de l'infection par le virus leucémogène félin. Ses travaux ont consisté en l'inoculation de chats SPF (Specific Pathogen Free) avec le FeLV et à suivre la distribution séquentielle de la protéine p27 dans le sang et les tissus grâce au test d'immunofluorescence réalisé sur des coupes d'organes d'animaux sacrifiés.

Les résultats de cette étude ont permis d'identifier 6 stades successifs^{10,41} :

a- Stade 1

Après contact oro-nasal avec le FeLV, celui-ci se réplique dans les lymphocytes B et T ainsi que les macrophages des amygdales et du tissu lymphoïde local. Il est ensuite conduit par drainage lymphatique dans les ganglions régionaux de la tête et du cou (ganglions sous-maxillaires et rétropharyngiens) où la réplication virale est amplifiée. Ce premier stade s'effectue dans les deux jours suivant l'exposition au virus.

b- Stades 2, 3

Dans les 2 à 12 jours après l'infection, le virus se réplique dans un petit nombre de lymphocytes et monocytes circulants (il y a donc une faible virémie) et est ainsi transporté vers les sites de multiplication secondaires que sont la moelle osseuse, le tissu lymphoïde systémique, et en particulier le GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue, ou tissu lymphoïde associé au tube digestif). La multiplication virale s'effectue pendant 3 à 12 jours.

c- Stade 4

Du 7^e au 21^e jour post-infection, les cellules hématopoïétiques non lymphoïdes de la moelle osseuse sont infectées, notamment les mégacaryocytes et les précurseurs des lignées myélomonocytaire et érythrocytaire. L'infection s'étend aux cellules germinales de l'épithélium intestinal.

d- Stade 5

Ce stade est caractérisé par la détection de l'antigène p27 dans les neutrophiles et les plaquettes circulants : cela correspond à l'établissement de la virémie périphérique d'origine médullaire qui s'effectue entre le 14^e et le 28^e jour après l'infection. Cette virémie est généralement persistante et est le résultat de l'échec de la réponse immune à chaque stade de l'infection.

e- Stade 6

En l'absence de réponse immunitaire efficace, l'infection gagne les épithéliums glandulaires et muqueux (pharynx, estomac, œsophage, pancréas, glandes salivaires, vessie) du 28^e au 56^e jour après l'infection. La présence du virus dans les excréments et sécrétions (salive, urine, fèces, larmes, lait) est responsable de l'excrétion du virus dans le milieu extérieur : le chat est alors excréteur.

2- Issues de l'infection

L'équilibre entre la réplication virale et la qualité de la réponse immunitaire de l'hôte permet de distinguer des issues différentes pour l'infection qui sont regroupées schématiquement en 4 catégories⁴⁰.

a- Catégorie 1 – virémie permanente^{40,41}

Durant les 4 à 6 semaines suivant l'exposition au virus, 30% des chats exposés ne produisent pas de réponse immunitaire neutralisante détectable (anticorps séro-

neutralisants négatifs). Au cours de cette même période, il y a répliation précoce du virus dans les cellules des systèmes hématopoïétique et lymphatique. Cela se traduit par une virémie persistante (ELISA + et IF+). Les chats sont excréteurs donc dangereux pour leurs congénères.

Ce type d'infection conduit habituellement à l'induction d'une maladie due au FeLV après une période de latence allant de quelques mois à plusieurs années : la survie de ces chats est donc limitée. On estime que 70 à 90% des chats déclarés virémiques persistants mourront dans les 18 à 36 mois ^{25,41}.

Cependant, dans quelques cas, le système immunitaire produit tardivement une réponse neutralisante efficace qui contrôle la virémie : ainsi, certains chats virémiques persistants peuvent rester sains pendant plusieurs années avant que des maladies liées au FeLV ne les atteignent, et certains chats (cas rares, mais rapportés dans la littérature) ne développent jamais de maladies ⁴¹.

b- Catégorie 2 – infection régressive ^{40,41}

On remarque communément que 60% des chats exposés au FeLV ont une réponse immunitaire neutralisante efficace et détectée après 4 à 6 semaines. Ces chats possèdent des anticorps séro-neutralisants à des titres souvent élevés. Le processus d'élimination peut prendre jusqu'à 3 mois. Il y a donc absence de virémie (ELISA - et IF-). La plupart de ces chats ne développent aucune maladie.

Cependant, 30% de ces chats évoluent vers un stade d'infection latente : la réponse immunitaire neutralisante détectée est insuffisante pour éliminer totalement le virus.

Le FeLV est conservé sous forme de provirus intégré dans le génome de la cellule-hôte. Sa répliation est occasionnelle et se traduit par une libération inconstante de l'antigène p27 (ELISA +). La plupart des chats infectés latents le restent et ne développent aucune maladie. Dans quelques cas, soit l'affaiblissement du système immunitaire fait évoluer l'infection latente vers la virémie persistante (catégorie 1), soit le chat développe un lymphome FeLV négatif.

c- Catégorie 3 – virémie transitoire ^{12,40,41}

Cette catégorie correspond à la virémie transitoire précoce de quelques jours qui suit l'exposition au virus. Le chat développe une infection latente dans laquelle le virus persiste dans certains tissus mais ne peut pas être détecté dans le sang. Ceci peut se produire chez 30% environ des chats infectés par le FeLV et déclenchant une réponse immunitaire efficace (soit la moitié des chats de la 2^e catégorie).

Les chats infectés de façon latente ont habituellement des anticorps vis-à-vis du virus qui peuvent aider à maintenir la latence en éliminant tout virus libéré des cellules infectées. Le virus lui-même demeure intégré au génome de l'hôte dans certaines zones, telles que la moelle osseuse, bien qu'il n'y ait aucune production de virus.

Cela signifie que les tests classiques ne peuvent pas détecter l'infection et la seule possibilité de détection du virus implique de cultiver des cellules de moelle osseuse qui expriment le virus en l'absence d'anticorps : il s'agit d'un test de spécialiste, ce qui le rend inutilisable en routine.

L'infection latente peut être réactivée ultérieurement pour produire une virémie et une maladie associée au FeLV, mais les scientifiques doutent que cela se produise fréquemment. Il a été montré que l'administration de très fortes doses de corticoïdes a réactivé le virus chez certains chats et il convient alors de s'inquiéter des conséquences potentielles d'un stress ou d'une maladie concomitante, qui pourraient réactiver l'infection latente. La réactivation de la réplication virale pourrait entraîner le risque de transmission du virus aux autres chats, mais les chats infectés de façon latente ne sont généralement pas considérés comme importants dans l'épidémiologie de l'infection par le FeLV.

d- Catégorie 4 – infection atypique ^{12,40,41}

Le chat peut développer une infection focale : en effet, 4 à 6 semaines après l'exposition au virus, la réplication virale n'est pas complètement contenue par la réponse immunitaire neutralisante qui est inconstante. Il semblerait que cela se produise chez 5 à 10% des animaux infectés par le FeLV. Dans cette situation, l'infection reste circonscrite à certains tissus tels que l'appareil gastro-intestinal, les

ganglions lymphatiques, la rate et/ou la moelle osseuse, où se produit la réplication virale. Cette infection, dite atypique, peut évoluer vers les catégories 1 ou 2.

Les tests classiques de détection du FeLV réalisés sur ces chats peuvent donner des résultats discordants puisque la réplication virale et la production d'antigènes viraux peuvent donner un résultat de test positif vis-à-vis de l'antigène p27 mais un résultat d'isolement du virus négatif. La recherche d'anticorps séro-neutralisants montre des résultats variables, tantôt positifs, tantôt négatifs.

Une infection localisée du tissu mammaire conduisant à l'infection des chatons par l'intermédiaire du lait a été signalée chez un chat non-virémique infecté par le FeLV ⁶⁵.

Les scénarios à l'issue de l'exposition au FeLV sont donc nombreux et entremêlés. L'infection est alors elle-même difficile à définir : en effet, au sens strict, il s'agit de la contamination par un germe, donc tout animal, quelle que soit l'issue de l'infection, peut être considéré comme infecté. Mais d'un point de vue clinique, le terme d'animal infecté sous-entendra un animal présentant une maladie liée au FeLV. Il est difficile de faire la part des choses et il convient de savoir quel test faire selon l'hypothèse de la catégorie dans laquelle se trouve le chat. Ce *vade mecum* fera l'objet de la dernière partie de cette étude.

3- Réponse immunitaire du chat vis-à-vis du FeLV

L'immunité antivirale réunit l'ensemble des moyens de défense tissulaires, cellulaires et moléculaires, spécifiques ou non, mis en œuvre par l'animal pour se défendre contre l'infection par le FeLV. Cette réponse immunitaire intervient à deux échelles : au sein de la cellule cible et contre les virions libérés.

a- Réponse immunitaire à médiation humorale

L'immunité à médiation humorale comprend les anticorps et le système du complément. Les anticorps constituent une réponse spécifique vis-à-vis du virus et

jouent un rôle prépondérant dans la neutralisation de celui-ci (grâce aux anticorps séro-neutralisants) et dans la destruction des cellules transformées (grâce aux anticorps anti-FOCMA).

i- Les anticorps antiviraux

Les anticorps dirigés contre le FeLV sont répartis schématiquement en 2 catégories : les anticorps séro-neutralisants et les autres. Tous sont impliqués dans la défense de l'organisme contre le virus mais leurs effets ne sont pas toujours bénéfiques.

1- Les anticorps séro-neutralisants : AcSN

- Mécanisme d'action des AcSN

Le principe d'action des AcSN est de se fixer sur la protéine majeure d'enveloppe du virus, la gp70. Par ce biais, les anticorps anti-gp70 bloquent l'adsorption du FeLV sur les récepteurs membranaires de la cellule hôte, empêchant la fixation du virus^{28,59,74}. La gp70 apparaissant également à la surface des cellules infectées par le FeLV, il y a consommation d'AcSN à ce niveau⁷⁴.

- Rôle des AcSN

Les AcSN ont un rôle protecteur chez le chat : ils sont notamment transférés naturellement par le colostrum issu de chattes infectées par le FeLV ou de chattes infectées expérimentalement par voie parentérale¹⁰.

La mise en place d'une immunité efficace contre le FeLV implique la reconnaissance de la gp70 par les cellules effectrices de l'immunité, dont nous parlerons au point 3-b, et par les anticorps du système immunitaire du chat infecté. La reconnaissance dépend de la configuration de l'antigène : en effet, la liaison antigène-anticorps est spécifique et dépend de la configuration de l'épitope, partie reconnue par les anticorps.

La réponse en AcSN varie selon le type de FeLV impliqué : les anticorps anti-FeLV-A ont deux actions : ils protègent le chat contre le développement d'une virémie et contre la réactivation d'une infection latente⁵⁶, qui sont dus majoritairement au FeLV-A.

Il y a également production d'anticorps anti-FeLV-B et C. Les anticorps dirigés contre le sous-groupe B apparaissent généralement tardivement après l'exposition au virus ⁷³. Les travaux de Loar posent la question de savoir si les AcSN développés contre les FeLV-B et C sont suffisants pour protéger l'animal contre l'apparition de maladies dues aux FeLV-B et C.

Les études, en particulier celles de Hoover et Rojko ^{70,71}, montraient pendant de nombreuses années que la résistance à la virémie semblait due à la présence d'AcSN principalement ^{70,71}. Or, en 1991, Charreyre et Pedersen ont montré par une étude cinétique des anticorps sur 3 ans sur 15 chats SPF infectés par voie oro-nasale avec le FeLV que la corrélation entre la réponse immunitaire humorale et le devenir des chats infectés (guérison ou virémie persistante) est irrégulière ¹⁵.

En effet, l'étude a montré que le titre en AcSN pendant la phase qui suit l'infection est plus élevé chez les chats qui vont guérir par rapport à ceux qui deviendront virémiques persistants. Cependant, une faible proportion des chats de l'étude guérissent totalement sans pour autant produire d'AcSN détectables. Cela laisse supposer que d'autres mécanismes immunitaires jouent également un rôle important dans le contrôle de l'infection par le FeLV.

2- Autres anticorps anti-viraux

Il existe d'autres anticorps anti-viraux qui agissent selon un mode d'action différent de la séroneutralisation ¹⁵: en effet, certains chats développent des anticorps anti-polymérase, qui inhibent *in vivo* la réplication virale et ralentissent ainsi l'infection ⁴⁴.

Néanmoins, tous les anticorps ne sont pas bénéfiques au chat qui les produit : les anticorps respectifs des antigènes p27, gp70 et p15E ont tendance à former des immuns-complexes qui se déposent dans les glomérules rénaux ¹⁰. Nous étudierons la pathogénie de ces immuns-complexes par la suite.

ii- Les anticorps anti-FOCMA

Les anticorps anti-FOCMA sont des anticorps cytotoxiques complément-dépendant dirigés contre le FOCMA, c'est-à-dire le néoantigène de membrane s'exprimant à la surface des cellules hématopoïétiques et lymphoïdes ayant subi la transformation maligne sous l'effet de l'infection virale.

Les travaux d'Essex ¹⁹ et de Hardy ²⁵ ont montré que ce type d'anticorps était à l'origine de la résistance de certains chats contre des phénomènes néoplasiques tels que les leucémies, les maladies myéloprolifératives, ou encore la croissance de lymphomes FeLV-induits.

Le mode d'action de ces anticorps est incomplètement détaillé, mais il a été montré que la plupart des anticorps dirigés contre le FOCMA peuvent se lier au complément, ce qui permet de lyser les cellules cibles lymphoïdes transformées par cytotoxicité.

Il a été montré par des méthodes d'immuno-fluorescence indirecte que les chats présentant des titres d'anticorps anti-FOCMA supérieurs à 1/8^e étaient apparemment protégés contre le développement de tumeurs, ce qui semble indiquer que les anticorps anti-FOCMA seraient potentiellement les médiateurs de la protection vis-à-vis des phénomènes néoplasiques.

iii- Le complément

Il a été montré une régression des lymphomes chez les chats perfusés avec de grandes quantités de sérum félin non immun ¹⁰. Cela laisse supposer qu'il existerait un facteur anti-néoplasique que serait le complément.

Il a par la suite été démontré que le complément était nécessaire à la lyse (par les anticorps anti-FOCMA) des cellules transformées.

Néanmoins, lors d'une infection par le FeLV, le virus active aussi la voie classique du complément, par la fixation de composants du complément sur les protéines p15E. Cette tentative de lyse étant infructueuse car non associée à une cellule infectée, il en résulte une hypocomplémentémie chez les chats FeLV+ et lymphomes+ ⁷⁰.

b- Réponse immunitaire à médiation cellulaire

La majorité des études portant sur la réponse immunitaire dirigée contre le FeLV se focalisent sur l'action des anticorps. Pourtant, tous les chats réussissant à éliminer le virus ne présentent pas d'anticorps séro-neutralisants détectables, ce qui laisse supposer que l'immunité à médiation cellulaire doit participer au contrôle de la virémie ou de la régression tumorale ⁷².

i- Nature et rôle des cellules impliquées dans la réponse à médiation cellulaire

1- Les macrophages

Les macrophages sont un type cellulaire non lymphoïde. En complément des lymphocytes T et NK, ils peuvent exercer une activité cytotoxique envers les cellules cancéreuses. Leur activité est médiée par le MAF (Macrophage Activating Factor), une lymphokine produite par les lymphocytes T ¹⁰.

Les macrophages peuvent être infectés par le FeLV, notamment lors de la phagocytose des immuns-complexes Ag-AcSN. Ceci se détecte uniquement chez les chats virémiques. Il est à noter que la résistance des macrophages à l'infection par le FeLV augmente avec le temps en raison de la maturation du système immunitaire : en effet, les macrophages des chatons sont 5 fois plus sensibles à l'infection par le FeLV que ceux des adultes. Cela justifie le fait que les chatons soient de moins en moins sensibles à l'infection au fur et à mesure de la prise d'âge ¹¹. Les travaux de Hoover ³⁹ ont montré qu'après inoculation par le FeLV-A ou un cocktail de FeLV-A, B et C, le taux d'infection persistante après inoculation était de 100% chez les chatons nouveaux-nés, 85% chez les chatons de 2 à 8 semaines, et seulement 15% chez les chats âgés de 4 mois à un an.

La capacité de résistance des macrophages à l'infection par le FeLV dépend également de certaines médications : Rojko en 1979 a étudié l'impact de l'utilisation de cortico-stéroïdes (type prednisolone) sur l'immunité lors d'infection par le FeLV ⁷⁰. Il en est ressorti que la prednisolone diminuait significativement la résistance à l'infection des

macrophages, augmentant ainsi la probabilité d'obtenir une virémie après exposition. Ces expériences ont été répétées au début des années 1980 avec d'autres corticoïdes, aboutissant aux mêmes conclusions ⁷².

2- Les lymphocytes T

Dans le thymus, les lymphocytes T, sous population TCR alpha-beta matures se partagent en 2 sous-populations fonctionnelles principales, qui expriment soit le CD4, soit le CD8.

- Les lymphocytes T CD4 sont principalement les lymphocytes producteurs de cytokines régulatrices de la réponse immunitaire (également appelés LT « helper » = Th, T « regulator » = TReg, T « suppressor » etc.)
- Les lymphocytes T CD8 possèdent principalement des activités cytotoxiques.

- Les lymphocytes T cytotoxiques

Les lymphocytes T CD8, également appelés cytotoxiques ou CTL, apparaissent chez un individu sensibilisé à un antigène donné (via une cellule présentatrice d'antigène). Ils agissent par destruction par contact avec la cellule cible exprimant l'antigène en surface associé au CMH-1 (Complexe Majeur d'Histocompatibilité), lui-même issu d'antigènes protéiques endogènes. Ce mécanisme de cytotoxicité ne fait intervenir ni les anticorps, ni le complément.

La cytotoxicité agit selon deux principes : l'apoptose, qui consiste en une auto-destruction des cellules anormales par fragmentation de l'ADN, ou la cytolyse, par formation de pores membranaires (perforines, granzyme..) et/ou sécrétion de protéines toxiques (enzymes, modificateurs du pH..). Ceci se fait par contact direct ou via la production de cytokines.

Les CTL persistent dans le sang de l'animal, même après une éventuelle rémission, et peuvent lyser les cellules précurseurs myélomonocytaires infectées ⁷².

Oswald Jarrett a montré en 1994 ⁴⁸ que les CTL avaient un rôle prépondérant dans la réponse immunitaire face à l'infection. Pour ce faire, des CTL ont été prélevés chez

des chats virémiques au niveau des noeuds lymphatiques poplités et mis en culture avec des stimulateurs de croissance. Une fois un taux suffisant obtenu, ces CTL ont été réinjectés de façon autologue aux chats virémiques. Cette méthode permet ainsi de s'affranchir des problèmes liés aux incompatibilités d'aplotypes de CMH entre chats. La charge virale mesurée après l'expérience était réduite par rapport au groupe témoin, mais aucun chat n'a pu être guéri à proprement parler. Une autre expérience menée par le Pr Zeidner a, elle, permis une guérison des chats en conjuguant le transfert autologue de CTL à l'emploi d'anti-rétroviraux, mais elle n'a pas été confirmée par des analyses ultérieures. Néanmoins, ces expériences tendent à montrer que les CTL ont un rôle majeur dans la réponse immunitaire protectrice vis-à-vis du FeLV ⁴⁸.

- Les lymphocytes T « helper »

Les lymphocytes T « helper », abrégés Th, sont des sous populations de LT CD4 contrôlant la réponse immunitaire spécifique, par le biais de cytokines.

On distingue classiquement les Th1 (favorisent l'immunité cellulaire) et les Th2 (favorisent la production d'anticorps IgA et IgE) : ces populations ont été bien définies dans des modèles expérimentaux (souris, rat) et chez l'Homme, et étendus à la plupart des espèces domestiques, dont le chat. D'autres sous-populations sont actuellement en cours d'identification, comme les Th3 et les Treg, qui ont des effets inhibiteurs de la réponse immune (production d'IL10 et de TGF) dans des contextes particuliers.

Chez l'Homme, les paramètres servant à l'identification des sous-populations lymphocytaires TCD4 régulatrices sont:

- la production de profils de cytokines caractéristiques (Th1: IFN γ et IL2; Th2: IL3, IL4 et IL5...)
- l'expression de certaines molécules de surface et CD (Cluster of Differentiation).

Les lymphocytes T « helper » sont responsables de la coopération cellulaire, que ce soit en amont avec les cellules dendritiques et cellules présentatrices d'antigènes (via

les épitopes T ou CMH2), ou en aval avec les macrophages (dont elles augmentent les capacités de phagocytose) et les lymphocytes B (dont elles induisent la différenciation en plasmocyte ou cellule B mémoire). Ils sont donc, indirectement, responsables de la production d'anticorps anti-FeLV notamment.

3- Les cellules « Natural Killer » et l'interféron

Les lymphocytes « Natural Killer », ou NK, sont des cellules capables de détruire des cellules anormales, par apoptose ou cytolysse, via un mécanisme de reconnaissance non spécifique particulier. En effet, il a été observé *in vitro* que les NK induisaient la cytolysse spontanée de nombreuses cellules⁴⁵. Leurs cibles sont des cellules présentant des anomalies du CMH, comme les cellules tumorales, les greffons, ou des cellules infectées. La destruction des cellules se fait par cytolysse ou induction d'apoptose après reconnaissance des cellules anormales par des mécanismes propres type KIR, à la différence des CTL qui sont « éduqués » par une cellule présentatrice d'antigènes.

Les cellules NK lysent donc de manière non spécifique les cellules portant des CMH étrangers et sont activées par l'interféron gamma : IFN γ et l'interféron alpha : IFN α . Ces deux types d'interférons sont produits respectivement par les lymphocytes T et par les fibroblastes tissulaires ; l'interféron gamma a une action bien plus importante.

Les études de Jameson et al, en 1983⁴⁵, ont montré que les IFN γ et α inhiberaient le bourgeonnement du FeLV à partir des cellules infectées par le virus. Par ailleurs, les interférons de type 1 comme l'interféron alpha a un rôle virostatique non spécifique dans les tissus infectés. Cet effet protecteur agit surtout dans les premiers temps de la propagation virale.

4- Les cellules « Killer »

De morphologie semblable à celles des petits lymphocytes, ces éosinophiles particuliers ne possèdent aucun antigène de surface caractéristique des lymphocytes B et T. Ces cellules « killer », ou cellules K, possèdent des RFc (récepteurs du fragment

Fc d'immunoglobulines) et des capacités cytotoxiques : le mécanisme de cytolysse est médié par les anticorps, on l'appelle ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity).

Les études de Rojko en 1982 ⁷² ont montré que les cellules K interviennent dans la lyse des cellules de moelle osseuse où l'infection latente a été réactivée.

ii- Action immunosuppressive du virus sur la réponse à médiation cellulaire

L'action immunosuppressive du FeLV est due à la protéine p15E et s'exerce sur l'immunité à médiation cellulaire, en particulier les lymphocytes T « helper » et cytotoxiques.

1- Action immunosuppressive générale

L'immunosuppression apparaît de manière concomitante à la virémie d'origine médullaire (stade 5).

Une étude de Tompkins, en 1991 ⁸⁰, a porté sur l'infection de chats SPF (Specific Pathogen Free) par les deux rétrovirus félines que sont le FeLV et le FIV (Virus de l'Immunodéficience Féline). Il a pu être démontré que les chats infectés présentaient une lymphopénie marquée, correspondant à une diminution des lymphocytes T, le taux de lymphocytes B restant normal. Pour le FIV, la lymphopénie correspond à la perte de lymphocytes T CD4 (« helper »), alors que le FeLV est responsable d'une diminution du taux de lymphocytes T à la fois CD4 et CD8 (cytotoxiques). Mais cette étude ne permet pas d'estimer à quel stade de l'infection la perte en cellules lymphocytaires a lieu. Par contre, elle précise qu'il n'y a aucune corrélation entre le statut clinique des chats infectés naturellement par le FeLV et la proportion de lymphocytes T, qu'ils soient helper ou cytotoxiques.

L'infection peut avoir des conséquences variables selon les souches. Lors d'une infection par le FeLV-Rickard par exemple, la proportion de Th et CTL reste dans les valeurs normales alors que le taux de lymphocytes B diminue. En parallèle, une

infection par le FeLV-FAIDS provoque une atteinte précoce des Th qui diminuent et ainsi une inversion de la proportion Th/CTL.

Ces exemples montrent que la sensibilité des lymphocytes B et T varie apparemment selon les souches de FeLV. Ceci expliquerait la diversité des syndromes immunosuppresseurs observés lors d'infection naturelle.

2- Action immunosuppressive sur la fonction T « helper »

La réponse humorale de chats SPF infectés expérimentalement ou sains suite à l'injection d'un antigène synthétique polypeptidique, nommé T-GAL (Antigène T dépendant) a fait l'objet de plusieurs études. Alors que la production d'IgM anti-T-GAL s'est révélée identique chez les chats infectés et chez les chats sains, signant un bon fonctionnement des lymphocytes B, la sécrétion d'IgG a été retardée et diminuée chez les chats virémiques. Les IgG (dont font partie les AcSN et les anticorps de l'ADCC) diminués indiquent donc un défaut de la fonction Th due au FeLV ¹².

Une autre étude portée par Rojko et al en 1984 ⁷⁴, montre quant à elle un défaut de réponse immunitaire humorale vis-à-vis des cellules pré-néoplasiques et néoplasiques exprimant le FOCMA.

3- Action immunosuppressive sur la fonction T « suppressor »

Les lymphocytes T « suppressor », ou Ts interviennent dans la régulation de l'immunité cellulaire et humorale, en inhibant les fonctions des autres lymphocytes, B et T, participant ainsi au contrôle de la tolérance au soi, et en contrôlant la différenciation des lymphocytes.

Rojko a comparé *in vitro* la fonction Ts chez les chats FeLV+ et FeLV-. Il en est ressorti que les chats FeLV+ ne possédaient pas de LTs ou que ces derniers présentaient des dysfonctionnements ⁷⁴. Cliniquement, ces dysfonctions prédisposent l'animal à des maladies telles que l'anémie hémolytique à médiation immune.

c- Conséquences

La protection du chat vis-à-vis de l'infection par le FeLV passe donc par l'action conjointe de l'immunité à médiation humorale et de l'immunité à médiation cellulaire. Ceci aura des conséquences dans le domaine vaccinal, où le vaccin doit conditionner l'animal à produire une réponse en anticorps suffisamment puissante pour être protectrice et induire une immunité à médiation cellulaire efficace.

4- Affections dues au FeLV

Le FeLV engendre deux aspects de la maladie contre lesquels le chat doit lutter :

- La virémie, la dépression immunitaire et les maladies associées
- Les néoplasies induites par le virus

Elles sont résumées dans le tableau fourni en annexe 1.

a- Maladies tumorales

Elles sont responsables de 20% des décès dus à l'infection par le FeLV ^{12, 31}. Ce virus peut causer différentes sortes de tumeurs, principalement des lymphomes et leucémies, mais aussi des néoplasies non-hématopoïétiques telles que les fibrosarcomes.

Les tumeurs FeLV-induites sont causées, au moins en partie, par mutagénèse insertionnelle somatiquement acquise, dans laquelle le provirus peut activer un proto-oncogène ou désactiver un gène suppresseur de tumeur ^{23,24}.

i- Tumeurs lymphoïdes solides : lymphomes

Les lymphomes FeLV-induits font partie des néoplasies les plus fréquentes dans l'espèce féline. On estime que 60 à 70% des lymphomes chez le chat seraient liés au FeLV ^{5,63}. Les différentes formes de lymphomes ont été classées en fonction de leur localisation anatomique la plus fréquente.

Lymphome thymique ou médiastinal : il s'agit du lymphome le mieux connu et le mieux caractérisé, notamment au niveau génétique⁵⁸. Les tumeurs contiennent typiquement des lymphocytes T (puisque le thymus est leur lieu de maturation secondaire) matures. Le processus néoplasique implique l'activation d'un lot distinct de proto-oncogènes et les cellules transformées contiennent du provirus dont les séquences LTR (Long Terminal Repeat) contiennent en parallèle des amorces répétées¹.

Cliniquement, le lymphome thymique est une tumeur envahissant de façon agressive le médiastin crânial, provoquant dyspnée par épanchement pleural où l'on trouve des cellules lymphoïdes anormales, généralement plus de 8000/ μ l^{1,18}. La tumeur remplit souvent toute la partie antérieure du thorax et peut encercler le cœur. Il est également possible d'observer des régurgitations par pression de la tumeur sur l'œsophage, ou même un syndrome de Claude Bernard Horner par compression des nerfs vagues¹⁸. Les sujets atteints sont des jeunes chats à 80 % FeLV+⁵.

Lymphome méésentérique : appelé « *alimentary lymphoma* » outre Atlantique, c'est une tumeur du tractus gastro-intestinal, plus fréquente chez les vieux chats⁵⁴, avec atteinte des nœuds lymphatiques méésentériques¹⁸. Seuls 25 % des sujets atteints sont FeLV+^{1,5,41}. Il provoque des troubles digestifs (vomissements, diarrhées), de l'anorexie et une perte de poids. Parfois ces deux derniers symptômes sont les seuls présents^{18,75}.

Lymphome multicentrique : il s'agit d'un lymphome généralisé incluant plusieurs tissus lymphoïdes et d'autres organes^{41,54}. Les signes sont généralement non spécifiques de la maladie¹². Il atteint des chats de tout âge (en moyenne 4 ans). Les sujets sont à 80 % FeLV +^{1,5}.

Lymphome neurologique : il peut affecter le cerveau ou la moelle épinière¹², il en résulte une parésie ou paralysie des membres postérieurs, voire des symptômes généraux du type crises d'épilepsie, ataxie... Les atteintes focales des nerfs périphériques ou du système nerveux central sont plus rares. Les sujets atteints sont souvent FeLV +^{5,75}.

Lymphome oculaire : touche le plus souvent des chats FeLV + ⁵, provoquant uvéites et glaucomes ¹².

Lymphomes rénal et cutané : les sujets atteints sont souvent FeLV-. Ils atteignent préférentiellement les chats âgés de 6 à 8 ans ⁵. Concernant le lymphome rénal, il en résulte une rénomégalie, habituellement bilatérale avec des déformations ainsi qu'une insuffisance rénale une fois que les reins sont massivement infiltrés ¹⁸. Ils peuvent être observés en association avec un lymphome nasal ¹².

Ces types de lymphomes précédemment décrits sont à différencier du lymphome thymique car ils ne contiennent ni lymphocytes T, ni lymphocytes B transformés et impliquent un lot de déterminants génétiques différents du lot impliqué dans le développement du lymphome thymique. L'étude menée par Athas et al, en 1995 ¹, montre ainsi qu'il existe deux scénarios d'événements génétiques distincts dans l'apparition d'un lymphome, selon qu'il soit thymique ou concernant une autre localisation.

Concernant le diagnostic, moins d'un tiers des lymphomes est associé à la présence de cellules lymphoïdes anormales dans le sang. Celles-ci se rencontrent généralement avec les lymphomes multicentriques ⁵. L'implication d'organes tels que le foie, la rate, la moelle osseuse, le sang et/ou des organes non lymphoïdes est un facteur pronostic péjoratif ⁴¹.

Il est intéressant de noter que parfois des lymphadénopathies périphériques bénignes peuvent être diagnostiquées chez des chats FeLV+, pouvant être confondues avec un lymphome périphérique ⁴¹.

ii- Tumeurs lymphoïdes diffuses (leucémies) et myélodysplasies

Environ 70% des chats infectés persistants sont atteints de myélodysplasie (correspondant à un état pré-leucémique) pouvant donner lieu à des dysérythropoïèses et/ou dysmyélopoïèses ⁵. De même, 80% des chats présentant un syndrome myélodysplasique sont FeLV+ ³⁸.

Différents types de leucémies aiguës ont été décrits, selon la lignée cellulaire transformée : on observe des «réticulo-endothélioses» (leucémies à cellules souches), des myéloses érythémiques (érythroblastes), des érythro-leucémies (érythroblastes et myéloblastes), des leucémies myéloïdes (granulocytes/monocytes), des leucémies mégacaryocytaires (mégacaryocytes) et certaines leucémies non classables ⁵.

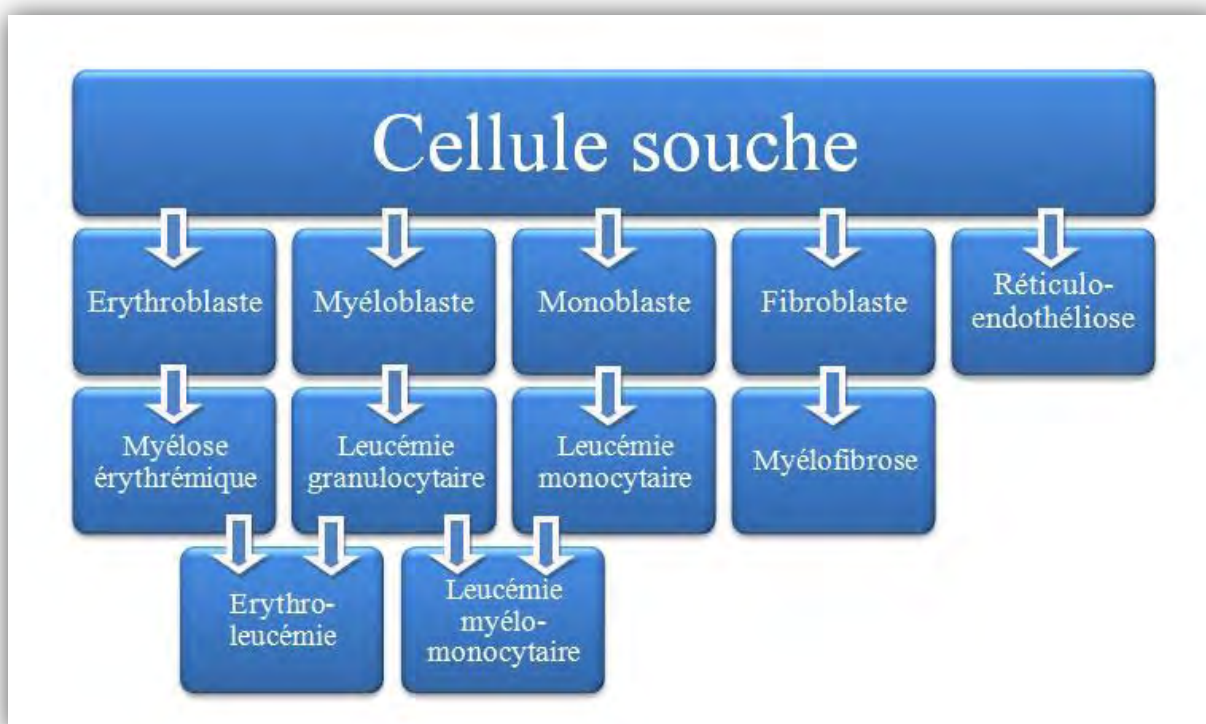


Figure 3: Origines des lignées cellulaires dans les désordres myéloprolifératifs ¹⁸

Les signes cliniques des syndromes myélodysplasiques sont vagues et rattachables aux symptômes de cytopénie : pétéchies, pâleur des muqueuses, hyperthermie et faiblesse. Une organomégalie peut être observée lors de leucémie myélo-monocytaire, mais pas lors d'autres types de leucémies ^{5,40,75}.

iii- Fibrosarcomes

De multiples fibrosarcomes chez des jeunes chats virémiques ont occasionnellement pu être associé à une infection par le FeSV (Feline Sarcoma Virus, qui nécessite une infection concomitante par le FeLV pour se répliquer) ⁴¹. On observe alors de multiples nodules fermes sous-cutanés ou cutanés ¹², ulcéreux ou nodulaires, sous forme de lésions cutanées ne guérissant pas et récidivant après chirurgie ⁷⁹.

Contrairement au fibrosarcome félin qui se présente habituellement sous forme solitaire et est rencontré chez des animaux âgés, la plupart des tumeurs induites par le FeSV affectent des jeunes chats âgés de 1 à 7 ans ⁷⁹.

Pourtant, les fibrosarcomes uniques ou les sarcomes induits par injection ne semblent liés ni au FeLV ni au FeSV, d'après les études menées par PCR ^{20,41}.

iv- Ostéochondromes

Bien que rares, des ostéochondromes (exostoses cartilagineuses) ont été décrits chez certains chats virémiques. Ces productions cartilagineuses peuvent comprimer des nerfs ou même la moelle épinière, engendrant des signes cliniques proches des hernies discales. La pathogénie de cette affection est inconnue. Ces ostéochondromes, bien qu'histologiquement bénins, ont un pronostic très mauvais de part leur localisation et l'euthanasie est généralement la seule issue ^{18,75}.

b- Maladies non tumorales

i- Dépression immunitaire

La dépression immunitaire causée par le FeLV est plus complexe et plus sévère que celle causée par le FIV (Virus de l'Immunodéficience Féline). De nombreuses anomalies sont rapportées telles qu'une atrophie du thymus, une neutropénie, une lymphopénie, une fonction neutrophilique anormale, une diminution du taux de Th, et plus important encore, une diminution de la quantité de CTL ⁴¹.

Que les signes cliniques soient présents ou non, tout chat virémique permanent est immunodéprimé ce qui retarde et diminue les réponses primaires et secondaires en

anticorps ⁴¹, ce qui a des conséquences cliniques que nous étudierons dans les paragraphes suivants.

ii- Anémies

Les anémies touchent 45 % des chats FeLV+ et plus fréquemment les jeunes. On distingue les anémies non-régénérative, plus fréquentes, des anémies régénératives ³¹.

Anémies non-régénératives :

Fréquemment rencontrées par rapport aux anémies régénératives (90% des anémies) ⁷⁶, elles sont généralement dues à une aplasie ou une hypoplasie médullaire causée par la réplication virale dans les cellules de la moelle osseuse, ou à un phénomène inflammatoire chronique ⁴¹. On observe alors une anémie normocytaire et normochrome ⁵¹.

L'hypoplasie médullaire peut concerner toutes les lignées cellulaires (on parle alors de pancytopenie) ou seulement les lignées érythrocytaires ⁵¹, mais on peut également rencontrer des syndromes myéloprolifératifs ^{17,41}.

Enfin, le FeLV-C peut interférer avec une protéine de transport de l'hème de fer, ce qui peut induire une anémie non-régénérative ⁴¹.

Anémies régénératives :

17 % des anémies dues au FeLV sont hémolytiques (associées à un ictère). Ces anémies peuvent être à médiation immune ou secondaire à une infection par *Mycoplasma haemofelis* (anc. *Hemobartonella felis*), en raison de l'immunodépression due au FeLV. On notera que 3 % des anémies sont secondaires à une hémorragie due à une thrombopénie ^{5,31}.

Catégorie	Mécanisme sous-jacent
Diminution de la production d'hématies	Aplasie médullaire de la lignée érythrocytaire (FeLV-C) Anémie aplasique Leucémie Myélofibrose Anémie inflammatoire liée à une maladie
Perte d'hématies	Thrombopénie secondaire à une maladie à médiation immune ou de la moelle osseuse
Augmentation de la destruction d'hématies	Anémie hémolytique à médiation immune associée au FeLV Co-infection par <i>Hemobartonella felis</i>

Tableau 1: Mécanisme des anémies chez les chats infectés par le FeLV ⁷⁶

iii- Thrombopénies

Presque un chat sur deux (44%) présentant une thrombopénie est FeLV+ ⁵⁸. Les causes probables sont un mécanisme à médiation immune FeLV-induit ou une infiltration leucémique ¹⁸. La durée de vie des plaquettes est réduite chez les chats virémiques, et bien que le nombre total de plaquettes soit diminué, le volume de plaquettes circulant est généralement augmenté. En effet, certaines plaquettes voient leur taille approcher celle des hématies, augmentant artéfactuellement la mesure de l'hématocrite et diminuant le comptage des plaquettes lors de comptage automatique. Il convient alors de toujours vérifier par un frottis sanguin un résultat obtenu automatiquement. Certains chats présenteraient même une thrombocytose au lieu d'une thrombopénie ¹⁸.

iv- Leucopénies

Le mécanisme des leucopénies est supposé similaire à celui des thrombopénies, à savoir médiation immune et myélosuppression ⁴¹. Les chats virémiques persistants présentent fréquemment une réduction du taux de granulocytes et lymphocytes. Ceci est sans doute corrélé à la dépression immunitaire qui affecte les chats FeLV+ ⁴¹.

Un syndrome de type « panleucopénie » ou « typhus » est souvent décrit ayant pour symptômes de la diarrhée, des vomissements (avec destruction des cryptes de l'épithélium intestinal) et une leucopénie. Le décès de l'animal a généralement lieu dans la semaine. Le diagnostic différentiel avec une infection par un parvovirus est difficile à faire, et repose sur la mise en évidence, pour le syndrome *panleucopenia-like*, d'une anémie et d'une thrombopénie, absentes dans les cas classiques. De plus, bien souvent, ce syndrome résulte d'une co-infection par les deux virus ^{18,31}.

v- **Dégénérescence des tissus lymphoïdes**

Suite à l'infection par le FeLV, le thymus subit fréquemment une atrophie, ce qui engendre une immunodépression, comme nous l'avons vu précédemment. Ceci est particulièrement préjudiciable au développement des chatons et est la cause principale de la faible longévité des chatons naissant FeLV+ ⁶².

vi- **Myélofibrose**

Il s'agit d'une fibrose diffuse de la moelle osseuse. Ce type de lésion apparaît tardivement dans l'historique de la maladie. Il se diagnostique par biopsie (et non par aspiration à l'aiguille), et est fréquemment associé à une érythropoïèse extramédullaire du foie et de la rate ^{18,75}.

vii- **Atteintes de l'appareil reproducteur**

On observe des avortements, des résorptions fœtales, des naissances prématurées et des mortalités néonatales chez 80 % des mères virémiques ^{5,28}. Les femelles infectées latentes pourraient transmettre le virus à leurs petits sans devenir virémiques ^{31,65}. Le FeLV est également une cause d'infertilité chez la chatte reproductrice ⁴¹.

Les petits infectés avant la naissance présentent une atrophie du thymus et des noeuds lymphatiques mais la cause de la mort est non identifiée. Les petits naissant en apparente bonne santé sont virémiques persistants ^{5,31}.

Les petits infectés en période néonatale présentent un syndrome de dépérissement (*fading kitten syndrom*) caractérisé par une anorexie, une déshydratation et une hypothermie évoluant vers la mort en 8 à 12 semaines ³¹.

viii- Neuropathies

Des neuropathies non associées à des phénomènes néoplasiques neurologiques ou à des infections opportunistes du système nerveux central ont été décrites. Il s'agit principalement de neuropathies périphériques s'exprimant par des signes divers tels qu'une anisocorie, une mydriase persistante, un syndrome Claude Bernard Horner, une incontinence urinaire (symptôme le plus courant) ⁷⁵, des vocalisations anormales, une hyperesthésie, une parésie et une paralysie ^{31,40,41}. Ces affections peuvent être dues en partie à une co-infection par *Toxoplasma gondii* ou le virus de la PIF (Péritonite Infectieuse Féline), ou due à l'effet direct du FeLV ¹².

ix- Maladies secondaires à l'infection

Les infections opportunistes secondaires à l'immunodépression sont responsables à 80% de la mortalité faisant suite à une infection par le FeLV ^{5,31}.

Ces infections sont virales (PIF, typhus, poxviroses), bactériennes (stomatites, gingivites chroniques, hémobartonellose), mycosiques (cryptococcose) ou parasitaires (toxoplasmose) ^{24,41,75}. Pour certaines, non pathogènes en temps normal (toxoplasmose), elles peuvent également être exacerbées par l'infection concomitante par le FeLV ⁴¹.

L'infection par le FeLV prédispose également fortement aux infections chroniques telles que la stomatite ou la rhinite chronique. Certaines affections, telles que la rhinite chronique ou les abcès, sont plus longues à soigner chez un chat FeLV+ et peuvent ressurgir de manière inattendue ⁴¹.

Le chat immunodéprimé peut ainsi présenter une uvéite, par co-infection à *Toxoplasma gondii* ou la PIF, un syndrome grippal en cas de co-infection par l'herpèsvirus félin ou le calicivirus félin, ou encore une stomatite due à une croissance excessive de la flore buccale et à une co-infection par le calicivirus félin ¹².

x- **Glomérulonéphrites et polyarthrites**

La réaction antigène-anticorps engendre la formation d'immuns-complexes qui ont tendance à se déposer dans les reins et les articulations chez les chats virémiques persistants, provoquant ainsi une polyarthrite chronique progressive et surtout une glomérulonéphrite menant à une insuffisance rénale chronique, cause de mortalité fréquente dans l'espèce féline ^{12,24,31}.

La polyarthrite chronique progressive qui ne se rencontre que chez les chats mâles. Les chats touchés par cette polyarthrite sont tous FeSV positifs et à 60 % FeLV positifs mais la maladie n'a pu être reproduite expérimentalement avec l'un ou les deux virus ce qui permet de suspecter une prédisposition génétique ^{5,12}.

xi- **Maladies de l'appareil digestif**

Il a été décrit des cas d'entérite chronique associée à une dégénérescence des cellules de l'épithélium intestinal et une nécrose des cryptes chez les chats où le virus est présent dans les cellules des cryptes intestinales car ces cellules sont en division active ^{41,79}. Ceci peut évoluer vers un état cachectique, du à l'entérite chronique mais également à une diarrhée chronique, des vomissements, une anorexie et à l'effet propre du TNF (Tumor Necrosis Factor) ³¹. Lors de maladies de l'appareil digestif, il est souvent noté une co-infection par *Salmonella sp.*, *Giardia sp.* ou *Crypstosporidium sp.* ¹².

Des maladies inflammatoires et dégénératives du foie ont également été décrites en association avec le FeLV ⁴¹.

V Conclusion

Le FeLV est un virus de répartition mondiale et particulièrement endémique dans les populations de chats vivant en collectivité. La transmission se fait essentiellement par contact de type léchage ou partage de gamelle, mais peut également être verticale. Les chats virémiques persistants, porteurs chroniques du virus, sont la principale source de contamination et présentent des signes cliniques très variables, menant à la mort à plus ou moins brève échéance.

Néanmoins, d'autres issues de l'infection sont possibles, au cours desquelles le chat ne développe pas de maladie, c'est pourquoi il est important de déterminer avec précision le scénario d'infection que développe le chat, et ce grâce aux outils diagnostiques décrits en deuxième partie.

Deuxième partie

Diagnostic et validité des tests de détection

I Diagnostic clinique

Comme décrit précédemment, le tableau clinique de l'infection par le FeLV est protéiforme, sans symptôme pathognomonique. Le diagnostic clinique est par conséquent impossible.

On ne peut que suspecter l'infection par le FeLV en présence de phénomènes néoplasiques, d'anémies ou d'infections répétées chez l'animal compatibles avec une immunodépression⁵. L'utilisation de tests diagnostiques est indispensable pour étayer l'hypothèse de l'infection par le rétrovirus.

II Diagnostic de laboratoire

1- Les différents tests

La grande majorité des tests de détection du FeLV sont fondés sur la recherche du virus en lui-même, et non des anticorps, car la réponse immunitaire n'est pas systématique et ne reflète pas forcément le statut virémique du chat. Enfin, la recherche des anticorps, notamment des AcSN, serait positive chez un animal vacciné (avec certains types de vaccins) ou un chaton ayant reçu du colostrum de mère vaccinée (avec certains types de vaccins) ou infectée, et rechercher le virus permet de s'affranchir de ce biais. Néanmoins, les AcSN peuvent être titrés dans le sang afin d'évaluer les défenses immunitaires du chat vis-à-vis du virus.

RAPPEL : sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative

Afin d'éclaircir ces notions qui seront continuellement utilisées par la suite, voici un rappel de ces notions essentielles de statistiques.

a- Tableau de contingence

	Malade	Non malade	Total
Test positif	A = vrai positif	B = faux positif	A+B
Test négatif	C = faux négatif	D = vrai négatif	C+D
Total	A+C	B+D	A+B+C+D = 100%

b- Sensibilité

La sensibilité d'un test est déterminée sur une population d'individus dont on sait qu'elle est porteuse de la maladie M parce qu'elle a subi un test de référence. Elle est définie par la proportion (en pourcentage) d'individus qui ont la maladie recherchée et dont le test est positif, en d'autres termes par la proportion d'individus malades de la maladie M que le test détecte correctement (vrais positifs). Par opposition, la proportion d'individus porteurs de la maladie M que le test n'a pas identifiés sont des résultats faussement négatifs. C'est une caractéristique intrinsèque du test.

$$D'où Se = \frac{A}{A+C}$$

c- Spécificité

La spécificité d'un test est déterminée sur une population d'individus dont on sait qu'elle n'est pas porteuse de la maladie M parce qu'elle a subi un test de référence. Elle est définie par la proportion (en pourcentage) d'individus qui n'ont pas la maladie recherchée et dont le test est négatif, en d'autres termes par la proportion d'individus non malades de la maladie M que le test détermine correctement (vrais négatifs). Par opposition, la proportion d'individus non porteurs de la maladie M chez qui le test est positif sont des résultats faussement positifs. C'est une caractéristique intrinsèque du test.

$$\text{D'où } Sp = \frac{D}{B+D}$$

d- Valeur prédictive positive

La probabilité d'avoir la maladie M en cas de test positif s'appelle la valeur prédictive positive (VPP) d'un test. Elle est donnée par le rapport des vrais positifs sur l'ensemble des tests positifs.

$$\text{D'où } VPP = \frac{A}{A+B}$$

e- Valeur prédictive négative

La probabilité de ne pas souffrir de la maladie M en cas de test négatif s'appelle la valeur prédictive négative (VPN) d'un test. Elle est donnée par le rapport des vrais négatifs sur l'ensemble des tests négatifs.

$$\text{D'où } VPN = \frac{D}{C+D}$$

f- Application – exemples

Ces notions de spécificité et sensibilité sont essentielles quand on parle d'un test de dépistage d'une maladie, car ils sont des facteurs intrinsèques au test, conditionnant alors la qualité et les éventuelles utilisations de ce dernier.

Prenons l'exemple d'une maladie X dont la prévalence est de 3% dans une population donnée. Un des tests, nommé T, permettant de détecter cette maladie présente les caractéristiques suivantes : $Se = 99\%$, $Sp = 97\%$

On réalise alors le tableau de contingence suivant, fondé sur 10 000 individus « testés ».

Une prévalence de 3% sur 10.000 individus revient à 300 malades et 9700 non malades.

	Malades	Non malades	
	300	9700	10 000

Appliquons maintenant le test T à cette maladie X.

Une sensibilité de 99%, appliquée aux individus malades, donnera :

$$Se = \frac{A}{A + C} = \frac{A}{300} = 0,99$$

D'où $A = 300 \times 0,99 = 297$

On en déduit $C = 300 - A = 3$

	Malades	Non malades	
Test positif	$A = 297$		
Test négatif	$C = 3$		
	300	9700	10 000

Une spécificité de 97%, appliquée aux individus non malades, donnera

$$Sp = \frac{D}{B + D} = \frac{D}{9700} = 0,97$$

D'où $D = 9700 \times 0,97 = 9409$

On en déduit $B = 9700 - D = 291$

	Malades	Non malades	
Test positif	A = 297	B = 291	A+B = 588
Test négatif	C = 3	D = 9409	C+D = 9412
	300	9700	10 000

Ainsi, on peut calculer la VPP et la VPN

$$VPP = \frac{A}{A+B} = \frac{297}{588} \approx 50,5\% \quad \text{et} \quad VPN = \frac{D}{C+D} + \frac{9409}{9412} \approx 99,97\%$$

On obtient ainsi une VPN excellente, proche de 100%, ce qui signifie qu'en cas de test négatif, il y a très peu de chance que l'individu soit effectivement malade. Par contre, la VPP est d'à peine plus de 50%, ce qui signifie qu'en cas de test positif, il y a presque une chance sur deux que l'individu soit un faux positif et ne soit donc pas malade.

Appliquons à nouveau ce test T à une autre maladie, Y, dont la prévalence est, cette fois-ci, de 30% dans la population étudiée.

La proportion de malades/non malades est ainsi nettement modifiée, avec 3000 malades (contre 300 auparavant), et 7000 non malades, pour 10000 individus inclus dans l'étude fictive.

	Malades	Non malades	
Test positif			
Test négatif			
	3000	7000	10 000

En appliquant les mêmes formules que ci-dessus, on obtient :

$$Se = \frac{A}{A + C} = \frac{A}{3000} = 0,99$$

D'où $A = 3000 \times 0,99 = 2970$

Et par soustraction, $C = 3000 - A = 30$

	Malades	Non malades	
Test positif	A = 2970	B	
Test négatif	C = 30	D	
	3000	7000	10 000

De même, concernant la spécificité

$$Sp = \frac{D}{B + D} = \frac{D}{7000} = 0,97$$

D'où $D = 7000 \times 0,97 = 6790$

Et par soustraction, $B = 7000 - 6790 = 210$

On obtient ainsi le tableau de contingence suivant

	Malades	Non malades	
Test positif	A = 2970	B = 210	A+B = 3180
Test négatif	C = 30	D = 6790	C+D = 6820
	3000	7000	10 000

On recalcule alors les VPP et VPN :

$$VPP = \frac{A}{A+B} = \frac{2970}{3180} \approx 87,74\% \quad \text{et} \quad VPN = \frac{D}{C+D} = \frac{6790}{6820} \approx 99,56\%$$

On obtient alors des chiffres relativement proches de 100% pour la VPP, ce qui signifie qu'en cas de test positif, on est sûr à plus de 87% que l'on a bien affaire à un individu malade, et une VPN à nouveau très proche de 100%, ce qui confirme qu'en cas de test négatif, on ait très peu de chance d'avoir un individu malade.

Prévalence (%)	VPP (%)	VPN (%)
0,5	9	>99,9
1	16	>99,9
2	28	99,9
5	50	99,7
10	68	99,4
25	86	98
50	95	95
75	98	86

Tableau 2 : Effet de la prévalence sur la valeur prédictive d'un test (sensibilité et spécificité fixées à 95%)⁷⁰

Conclusion :

Ces exemples montrent bien qu'un même test donne des informations à interpréter impérativement selon la prévalence de la maladie étudiée. Ceci aura une importance capitale lors de l'interprétation des tests décrits ci-après.

a- Méthodes de détection directes

Elles consistent à mettre en évidence le virus infectieux et/ou un de ses constituants : antigènes viraux ou génome viral (ARN ou ADN proviral pour le FeLV).

i- Observation du virus par microscopie électronique

Le microscope électronique permet de distinguer la morphologie des virus, qui, dans le cas du FeLV, est caractéristique de la famille des *Retroviridae*. Le FeLV est sphérique, enveloppé, recouvert de spicules et mesure 100-110nm de diamètre. Sa capside est icosaédrique. Le prélèvement doit être de bonne qualité et suffisamment concentré en virus (plus de 10^7 virions par ml)⁷⁵.

Cette méthode est très spécifique mais peu sensible, car il y a risque de faux négatif si le prélèvement n'est pas assez riche. De plus, elle nécessite un matériel coûteux, du personnel hautement qualifié et est chronophage. Elle n'est donc pas applicable en routine et réservée à quelques laboratoires spécialisés⁷⁵.

ii- Isolement viral

1- Sur culture cellulaire QN10

L'isolement viral sur culture cellulaire QN10 a été considéré comme étant le diagnostic de certitude pour la détection du FeLV, tant que la méthode par PCR n'était pas décrite⁴³. Les cellules QN10 proviennent généralement d'un clone d'AH927 (cellules embryonnaires de fibroblastes félines) dans lequel le provirus du virus du sarcome murin de Maloney a été introduit⁶⁹. Si le virus est présent dans le prélèvement, il se réplique et libère ainsi le virus sarcomatogène⁷⁵.

Dans les premières phases de l'infection, cette méthode est considérée comme étant la plus sensible⁴¹, mais en raison des difficultés logistiques (notamment thermolabilité du FeLV qui ne conserve ses propriétés infectieuses que quelques heures dans le milieu extérieur), elle n'est plus employée en routine^{41,75}.

Le principe est simple : mettre en contact des cellules QN10 avec le sérum à tester. En cas de présence de virus dans le sérum, ce dernier induit une transformation des cellules QN10 et on pourra alors observer son effet cytopathogène (ECP).

Spécificité et sensibilité de la méthode par isolement viral : inconnues, mais proches de 100%. C'est une méthode de référence (*gold standard*).

2- Sur culture de cellules de moelle osseuse

Ce test consiste à cultiver des cellules de moelle osseuse *in vitro*, en présence de corticoïdes ou de macrophages de chatons afin de réduire ou de détourner l'activité immunitaire et permettre ainsi au virus de se développer ⁷⁵.

Cette méthode est l'une des rares permettant de détecter le virus latent dans les cellules de la moelle et donc de dépister les chats infectés latents ⁶⁹. Malheureusement, elle n'est pas applicable en routine car elle nécessite de nombreux prélèvements frais de moelle osseuse. Elle est, de plus, très longue à réaliser (environ 30 jours !) ⁷⁵.

Le FeLV est alors détecté par des méthodes décrites ci-dessous (ELISA, PCR...) dans le surnageant des cellules de moelle osseuse cultivées.

iii- Recherche de l'antigène p27

Pour mémoire, la protéine p27 est l'antigène majeur de la nucléocapside : elle est le responsable d'une activité antigénique croisée entre les sous-groupes de FeLV, elle est nommée antigène spécifique de groupe, ou GSA (Group Specific Antigen).

Les tests de détection les plus courants de l'infection par le FeLV sont fondés sur la mise en évidence de la p27. Cela étant, la virémie n'accompagne pas systématiquement l'antigénémie et l'interprétation est donc à moduler ¹⁰.

1- Immunodiffusion

L'immunodiffusion consiste à déposer l'échantillon susceptible de contenir des antigènes viraux, notamment la p27, dans un puits creusé dans un gel d'agarose. Un autre puits y est alors opposé, dans lequel les anticorps correspondants sont déposés. Les réactifs diffusent alors dans le gel et forment une ligne de précipitation si l'antigène est présent ²⁶.

Ce test fut employé pour le dépistage du FeLV grâce à la découverte en 1969 d'un sérum de lapin spécifique anti-FeLV. Son excellente spécificité lui valut d'être utilisé pour les premières études épidémiologiques du virus, mais la technique nécessitant de grandes quantités de sérum ou de tissu, elle fut supplantée par l'immunofluorescence indirecte ^{26,75}.

2- ELISA

Les premiers tests ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) étaient fondés sur le principe des anticorps polyclonaux : de tels tests présentaient l'avantage de permettre la quantification de l'antigène p27 mais avaient tendance à donner des résultats faux-positifs car ils ne détectaient pas seulement des protéines virales mais également des composants non viraux ⁴¹.

L'amélioration des tests ELISA, fondés cette fois-ci sur les anticorps monoclonaux dirigés contre la p27 a permis de détecter cette protéine du FeLV exogène, qu'elle soit présente dans le sang total ou le sérum ⁴¹.

Cette méthode utilise un anticorps monoclonal ou polyclonal unique et spécifique d'un épitope (nommé A) de la p27, cet anticorps étant fixé sur une phase solide. L'échantillon à tester est mélangé à un ou deux anticorps monoclonaux spécifiques des épitopes B et C de la p27 et couplés à une peroxydase, nommée HRP (HorseRadish Peroxydase). Le tout est ajouté à la phase solide. En présence de l'antigène p27, il y a précipitation du complexe antigène-anticorps conjugués à l'enzyme et changement de couleur du test ^{3,4,41}.

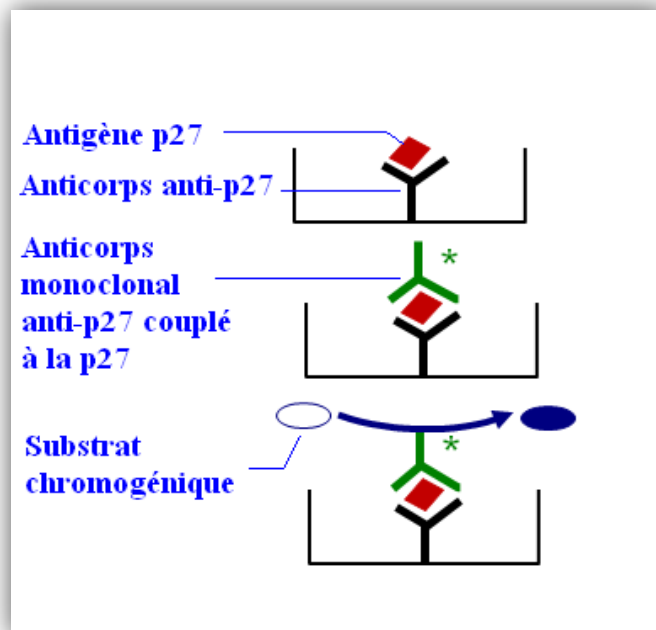


Figure 4: Principe de l'ELISA ⁷⁷

Cependant, la virémie n'accompagnant pas systématiquement l'antigénémie, l'ELISA n'est pas un marqueur de l'infection *sensu stricto* très fiable ⁴¹. En effet, l'ELISA ne permet pas de prédire si la présence de p27 dans le liquide biologique analysé va être transitoire ou persistante alors qu'avec un test IFI positif, on sait automatiquement que la présence de p27 est persistante, donc que l'infection l'est également puisque le virus a alors contaminé la moelle osseuse. Ceci est tout de même à moduler car de récentes études ont montré que l'infection de la moelle est de toute façon systématique ³⁵.

Spécificité et sensibilité :

La méthode ELISA présente l'avantage d'avoir une grande spécificité et une assez bonne sensibilité, ce qui, bien évidemment, dépend du gold standard utilisé pour la comparaison. Dans une étude terrain de Hofmann et al, en 2001 ³⁴, quand la PCR provirale était choisie comme gold standard, la sensibilité de l'ELISA était d'environ 90%, ce qui signifie que 10% des 597 chats testés détectés PCR+ étaient ELISA-, en raison de l'absence d'antigénémie associée à la virémie. La spécificité, quant à elle, était proche de 100% car aucun échantillon ELISA+ n'est revenu PCR-. Ces résultats

sont similaires si l'on utilise l'isolement viral comme gold standard, avec une sensibilité d'environ 90% et une spécificité de plus de 98% ⁴¹.

La détection de l'antigène P27 soluble peut également se faire dans la salive et les larmes (ce qui présente un avantage chez des animaux difficiles à manipuler ou très déshydratés). La sensibilité du test sur salive serait identique à celle sur sérum (91.7 % à 100 %), par contre, la spécificité serait moindre (85 à 97.1%) ^{2,3,75}.

De faux positifs sont parfois observés, et ce, d'autant plus lors d'utilisation de salive (sans doute du aux bactéries et débris dans la cavité buccale) ou de sang total au lieu de sérum ou plasma ^{3,32}.

Plusieurs hypothèses ont été avancées concernant le manque de sensibilité de l'ELISA:

- Il pourrait y avoir présence dans le sérum d'une substance interférente ayant une activité empêchant la formation des liaisons entre les anticorps et les antigènes ^{5,32}.
- Il existe des chats chez lequel l'antigène P27 est absent du sérum mais présent dans les cellules sanguines où il peut alors être identifié par IFI. La sensibilité du test serait alors meilleure avec du sang total plutôt qu'avec du sérum ⁷⁵.

Tests disponibles :

- Les tests en cupule (ViraCHEK[®] FeLV par SYNBIOTICS) ne nécessitent qu'une fraction infime de sérum, plasma ou sang total (sur anticoagulant), soit 50µl, et sont utilisables en série. Ils sont par contre trop chers et trop lourds d'utilisation pour un simple cabinet.
- SNAP[®] (par Idexx) est un test sur membrane où l'apparition d'un point bleu détermine la présence de l'antigène. Il présente les inconvénients : ³⁰
 - d'être difficilement interprétable avec du sang total et infaisable avec du sang total coagulé,
 - de nécessiter une quantité de sang plus importante (à peu près 0,5 ml),
 - d'avoir une lecture parfois difficile des spots bleus,
 - et d'être plus lent que ses concurrents (mais tout de même assez rapide : 2 minutes de manipulation + 8 minutes d'attente du résultat).

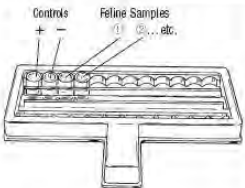
- Assure[®] FeLV, commercialisé par SYNBIOTICS, permet de détecter l'antigène p27 dans le sang total, le sérum, le plasma ou la salive, par écouvillonnage.

ViraCHEK[®]/FeLV Test Procedure

NOTE: Use Anticoagulated WHOLE BLOOD, PLASMA or SERUM Samples.
Prior to use, allow kit components to come to room temperature (21° to 25° C; 70° to 78° F).

A. PREPARATION

1




- Calculate required number of wells:
 - 1 well for positive control
 - 1 well for negative control
 - 1 well for each sample
- Remove required number of wells.
- Leave wells attached to each other.
- Place in well holder.

B. CONJUGATE

3


- Add 1 drop Reagent 1 - Conjugate (blue cap) into each well.
- Tap well holder (without splashing) for 15 seconds to mix.
- WAIT 5 MINUTES**



D. DEVELOP

6

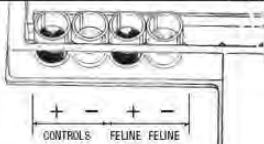
- Add 2 drops Reagent 2 (purple cap) to each well.
- Tap well holder (without splashing) for 15 seconds to mix.
- WAIT 5 MINUTES.**



READ RESULTS

E. INTERPRETATION OF RESULTS

7



CONTROLS

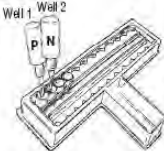
- POSITIVE** control should be distinctly blue.
- NEGATIVE** control should be completely clear.

SAMPLES

- POSITIVE** samples will be blue. Color intensity may vary with level of FeLV antigen present.
- NEGATIVE** samples will be clear. Compare directly with the negative control against a white background.

A. CONTROLS

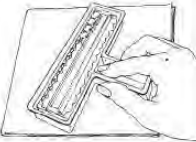
- Add 1 drop Positive Control (red cap) into the first well.
- Add 1 drop Negative Control (gray cap) into the second well.



C. BLOT AND WASH

4

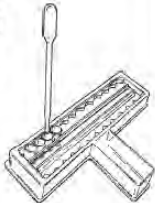
- Discard fluid from wells into sink or appropriate container.
- Invert holder and blot firmly onto a paper towel to remove final drops.



B. SAMPLE(S)

- Pipette 50µl (0.05 ml) of sample into the next well following the controls.
- Repeat for each additional sample into subsequent wells.

ONE WELL IS USED FOR EACH SAMPLE.



NOTE: If an accurate pipette is unavailable, 0.05 ml is equal to:

- 4 drops from a 20 gauge needle.
- 6 drops from a 22 gauge needle.
- 8 drops from a 24 gauge needle.
- 9 drops from a 25 gauge needle.
- 10 drops from a 26 gauge needle.

C. BLOT AND WASH

5

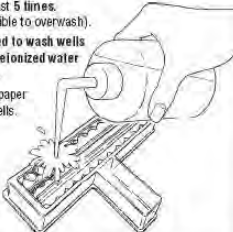
NORMAL SALINE MUST BE USED WITH WHOLE BLOOD SAMPLES
Deionized/distilled water or normal saline can be used with serum and plasma.

FLUSH WELLS VIGOROUSLY:

- Use liberal amounts of distilled, deionized water or normal saline.
- Direct a **forceful stream** into each well. (Oversplashing will not contaminate adjacent wells.)
- Shake out excess water.
- Repeat at least **5 times**. (It is impossible to overwash.)

If saline is used to wash wells use distilled/deionized water for final wash.

- Blot against a paper towel to dry wells.



GOOD TECHNIQUES = ACCURATE RESULTS

- Whole blood and plasma must contain anticoagulant.
- Hemolyzed and lipemic samples may be used, however, normal saline should be used in place of distilled or deionized water in step 5. Severely hemolyzed and lipemic samples may produce background color. When in doubt, obtain a better quality sample.
- Washing is the most important step. Microwells cannot be overwashed.** Underwashing will result in nonspecific blue color development in the negative control and sample wells.
- Remember! Use saline as the wash solution with whole blood samples.
- Prolonged incubation for more than 5 minutes in step 6 may result in non-specific color development. Read results at 5 minutes. If no color is seen at 5 minutes, the sample is negative.
- Do not use the test kit past the expiration date and do not intermix components from different serial numbers.
- Store kit at 2° to 7°C (36° to 45° F). Allow kit to come to room temperature before use.

Figure 5: Protocole de réalisation du test ELISA ViraCHEK[®] FeLV ⁷⁷

NB : La cupule en plastique contient les anticorps dirigés contre la p27.

3- Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'immunofluorescence indirecte, dénommée IFI ou IFA (Indirect ImmunoFluorescence Assay) par la suite, est la première méthode de détection de l'antigène p27 qui a été développée en 1973, dans le but d'être applicable aux conditions de terrain ⁴¹. Elle a été créée sur l'observation du fait que les granulocytes, les lymphocytes et les plaquettes contenaient des composants issus du gène *gag* chez les chats virémiques ⁷⁵. Or le gène *gag* code, entre autres, pour la protéine p27, qui est donc décelée dans les granulocytes et les plaquettes ⁴¹ chez 98 % des animaux infectés⁶². Cette méthode permet donc d'identifier la p27 en intracellulaire, contrairement à l'ELISA qui identifie la p27 lorsqu'elle est solubilisée (après lyse cellulaire ou simple relargage). Cette différence a des conséquences importantes qui seront détaillées ci-après.

Le principe de l'IFI est relativement similaire à celui de l'ELISA : sur un échantillon sanguin étalé sur lame et fixé à l'acétone est appliqué un anticorps monoclonal spécifique non marqué (issu de sérum de lapin sensibilisé au FeLV) couplé à un anti-anticorps (anti-IgG de lapin) marqué à la fluorescéine (fluorochrome, puis ajout de bleu Evans). En cas de présence de p27 dans la cellule, la réaction produit une lumière fluorescente, alors que les cellules saines sont rouges ⁵⁷.

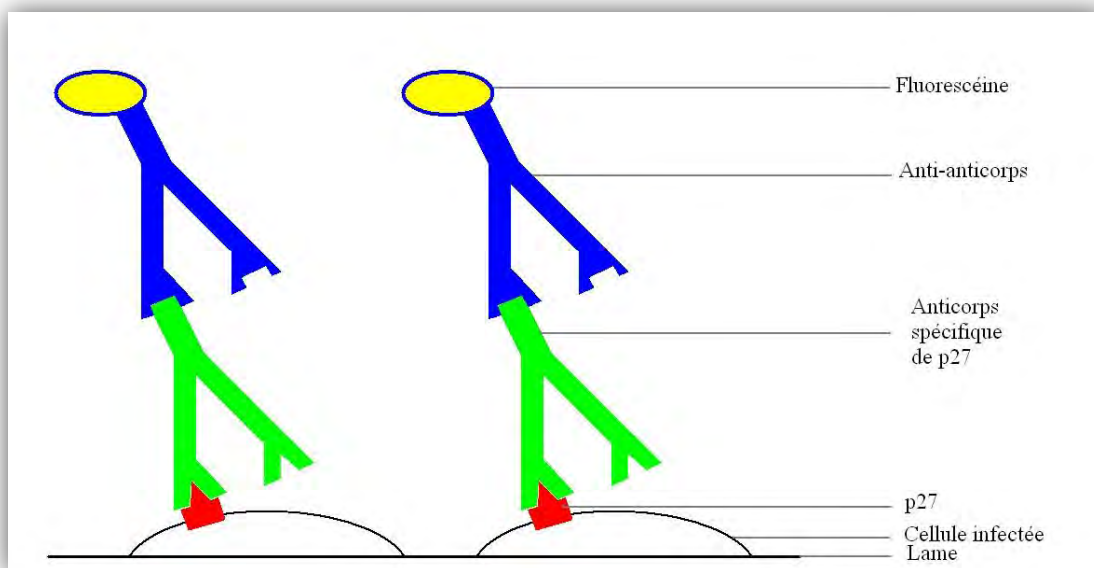


Figure 6: Principe de l'immunofluorescence indirecte

Sensibilité et spécificité :

La sensibilité de l'IFI n'est pas excellente, comparée aux méthodes de référence (isolement viral par exemple), mais l'IFI a l'avantage de détecter uniquement les animaux virémiques persistants et ce, de façon plus fiable que l'ELISA³²: en effet, elle est plus sensible et plus spécifique, mais en contrepartie elle est plus lourde à mettre en œuvre et nécessite du personnel qualifié et du matériel coûteux (microscope à fluorescence)⁷⁵. C'est une méthode de référence⁵⁰, mais peu ou pas utilisée.

On peut avoir des faux négatifs :

- Lorsque l'infection du chat est récente (avant l'infection de la moelle osseuse) : l'IFI ne devient positive que lorsque la moelle osseuse contaminée commence à relarguer dans le sang des leucocytes porteurs de l'antigène p27³.
- Lors d'une leucopénie, FeLV induite ou non³.
- Lorsque l'animal a au sein de son organisme un noyau d'infection libérant des antigènes mais pas de virus entier. Dans ce cas, le chat est positif à l'ELISA et négatif à l'IFI, les résultats dépendent alors du type d'infection par le virus⁵.

On aurait également plus de faux-négatifs et de faux positifs sur les échantillons sanguins avec anticoagulants (en particulier sur EDTA)^{3,49,75}. De plus, les éosinophiles ont fortement tendance à se lier à un certain conjugué utilisé lors de l'IFI, engendrant ainsi des résultats faux-positifs si les lames ne sont pas lues avec attention^{41,57}.

Les méthodes IFI et ELISA peuvent être considérées comme complémentaires, car dans un certain cas de figure (virémie transitoire), on aura discordance de résultats entre les deux tests : on obtiendra un ELISA+ et une IFI-, ce qui est particulièrement informatif quant à l'état d'infection de l'animal (*cf* 2^e partie, II 2-a).

4- Immunochromatographie / immunomigration rapide (RIM)

Ces tests sont fondés sur le même principe que l'ELISA mais les enzymes sont remplacées par des petites perles de moins d'un micromètre liées aux anticorps révélateurs⁴¹.

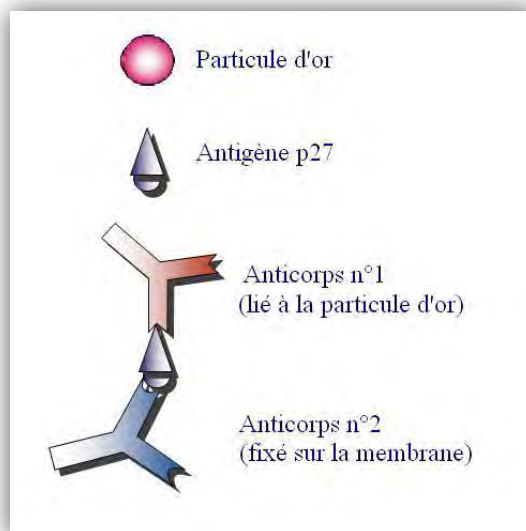


Figure 7: Composants du test Witness® FeLV⁷⁷

C'est la méthode utilisée dans plusieurs tests : Witness®, Speed Duo®, Fast Test®, One Step® (cf. ci-dessous). C'est une méthode facile à mettre en œuvre : pour chaque test il suffit de déposer une goutte d'échantillon (sang total avec ou sans anticoagulant, sérum ou plasma). Ces tests présentent une bonne stabilité et ne nécessitent pas de conservation au réfrigérateur comme les tests ELISA³⁰.

Principe de fonctionnement (exemple du Witness® FeLV):⁷⁷

Il s'agit d'une réaction par immunochromatographie, ce qui implique plusieurs types d'anticorps :

- L'anticorps n°1, lié à une particule d'or colloïdal et non fixé, se lie à l'antigène p27
- L'anticorps n°2, fixé à la membrane, en position « résultat », se lie également à l'antigène p27.
- L'anticorps n°3, fixé à la membrane, en position « témoin », se lie à l'anticorps n°1.

Une goutte de sang/sérum est déposée dans le puits. Après passage du filtre par le liquide, l'anticorps n°1 détecte l'antigène p27 et se lie à ce dernier.

Puis l'ensemble migre grâce à la solution tampon, jusqu'en bout de membrane.

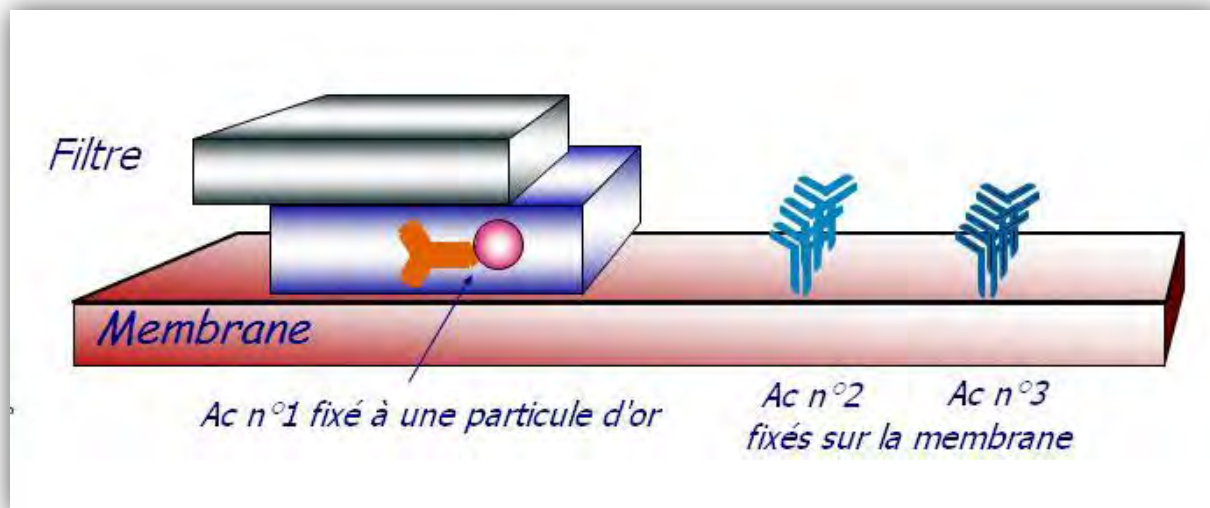


Figure 8: Migration lors du test Witness® FeLV⁷⁷

L'anticorps n°3, situé sur la bande témoin, détecte l'anticorps n°1, ce qui permet d'obtenir un témoin positif en cas de migration correcte de l'ensemble.

L'anticorps n°2, lui, détecte spécifiquement l'antigène p27, et se lie à ce dernier s'il est présent.

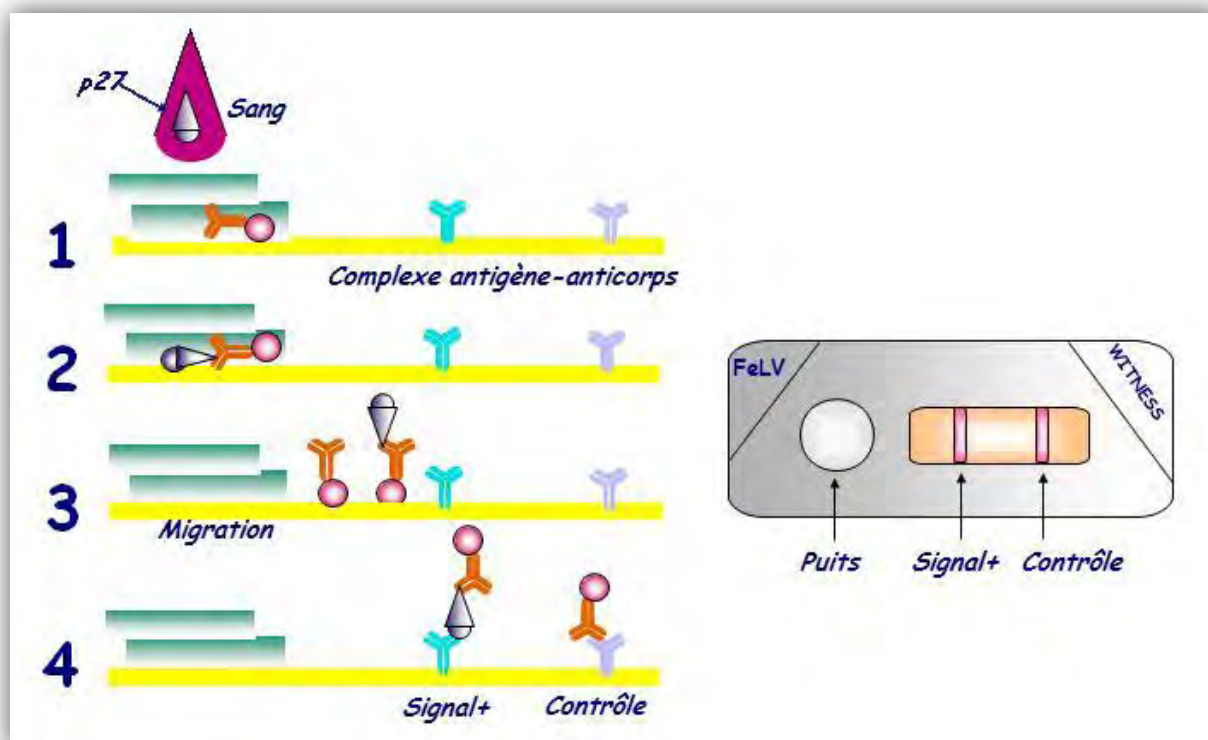


Figure 9: Principe du test Witness® FeLV⁷⁷

Le résultat sera alors positif ou négatif selon la présence ou non d'une bande colorée au niveau du site « résultat ». La présence d'une bande colorée au niveau du site « contrôle » indique que le test est valable et interprétable.

Sensibilité et spécificité :

Les études montrent que la sensibilité et la spécificité de ce type de tests sont comparables à celles de l'ELISA^{30,41}. Néanmoins, on note une variabilité entre les performances promises par les laboratoires et les performances réelles des produits.

Marque du test	Sensibilité (%)		Spécificité (%)		Fabricant
	Annoncée	Réelle	Annoncée	Réelle	
Witness® FeLV	98,6	92,1	99,5	97,5	SYNBIOTICS
Speed® Duo FeLV	94,7	94,7	99,2	99,2	BVT
One Step® FeLV	?	96,8	?	95,4	EVL
Fast test® FeLV	87,9	94,7	98	98,8	Megacor

Tableau 3: Spécificité et sensibilité de différents tests du commerce²⁹

NB : la sensibilité et la spécificité « réelles » ont été calculées sur 800 échantillons de sérum, avec confirmation par isolement viral ²⁹.

iv- Mise en évidence de l'acide nucléique viral

1- Hybridation moléculaire

Cette technique consiste à utiliser une sonde ADN marquée et complémentaire de la séquence d'ADN que l'on cherche à mettre en évidence. En s'hybridant, par le principe de la complémentarité des bases nucléotidiques, à cet ADN (ici ADN du provirus), la sonde marquée permet de détecter sa présence. Cette technique n'est cependant pas suffisamment sensible pour être utilisée en routine comme test de diagnostic ⁷⁵.

2- Recherche de l'ADN proviral par PCR

La PCR, ou Polymerase Chain Reaction (ou encore ACP pour Amplification en Chaîne par Polymérase), est une technique de réplication moléculaire ciblée s'effectuant *in vitro*.

Imaginée par K. Mullis en 1985 (Prix Nobel en 1993), la technique connaît un essor considérable à partir de la commercialisation, vers 1988, d'une ADN polymérase résistante aux températures élevées (la Taq-polymérase), qui permet une automatisation de la technique (car auparavant, la polymérase devait être rajoutée à chaque cycle car détruite lors de l'étape de dénaturation de l'ADN) ^{75,78}.

Cette méthode permet la détection d'une portion d'ADN proviral à l'état libre dans le sang, les tissus ou les sécrétions, même en quantité infime. C'est un test très précoce, sensible et spécifique ⁶: la spécificité a été notamment accrue par l'utilisation de la Taq-polymérase, car elle permet une élongation à des températures supérieures, ce qui réduit les risques de formation de structures secondaires d'ADN et d'amplifications non spécifiques ^{37,75}.

Ce test est recommandé lors d'affections localisées (stomatites, affections tumorales) qui peuvent donner lieu à des résultats faussement négatifs avec les tests classiques, en raison de l'absence d'antigène p27 circulant, ainsi que pour confirmer les résultats positifs obtenus avec des tests rapides chez des chats sans signes cliniques et hors d'un contexte de contamination possible ⁶.

Le but de cette méthode est d'amplifier une partie du génome viral, même s'il est intégré dans celui des cellules félines infectées: en effet, il a été décrit précédemment que le virus leucémogène félin était un rétrovirus à ARN : son génome se présente donc sous la forme d'un dimère inversé d'ARN monocaténaire linéaire de sens positif. Or le virus est capable, à partir de son ARN, de produire un ADN bicaténaire (*cf.* 1^{ère} partie II 3). Après la synthèse d'une copie d'un brin d'ADN complémentaire par la reverse transcriptase (RT) débute une nouvelle synthèse, à partir du modèle de la copie d'ADNc synthétisée, afin d'obtenir un ADN bicaténaire grâce à l'ADN polymérase ADN dépendante. Cet ADN bicaténaire peut alors s'insérer dans le génome de la cellule-hôte grâce aux endonucléases et aux ligases virales.

Le FeLV peut ainsi se présenter sous deux formes : ARN viral et ADN proviral, ce qui implique deux types de PCR différents, mais pas systématiquement.

a- Principe de la PCR

Elle consiste en l'amplification à l'aide d'amorces spécifiques, qui sont des oligonucléotides d'environ 20 paires de bases, d'une séquence d'acide nucléique décrite comme spécifique de l'agent recherché par synthèse enzymatique. Ces amorces, au nombre de 2, s'hybrident sur des brins d'ADN complémentaires et opposés de façon à encadrer la séquence à amplifier.

L'ADN ou l'ARN, servant de matrice à l'amplification, est obtenu après extraction à partir de prélèvements de nature diverses : sang, biopsies, liquide céphalo-rachidien...^{7,75}

b- Protocole de réalisation

Les conditions d'environnement sont très importantes pour le bon déroulement de l'amplification : ainsi, température, force ionique et concentration des différents réactifs sont minutieusement calculées.

Le mélange réactionnel contient l'acide nucléique cible (notamment la séquence à amplifier), la Taq-polymérase, le mélange des quatre désoxyribonucléotides constitutifs de l'ADN, un tampon et les ions (magnésium, etc.) nécessaires au bon fonctionnement de l'enzyme. Tous sont ajoutés en large excès par rapport à l'ADN ⁷⁵.

Le mélange est placé dans un thermocycleur qui se contente de placer le tube aux températures voulues pendant les durées programmées... et de recommencer en effectuant des cycles. Un cycle reproduit deux ou trois températures différentes pendant des durées différentes. La durée d'un cycle est de l'ordre de la minute. Ce thermocycleur programmable répète continuellement 3 étapes : ⁷⁵

- Une étape de dénaturation : les deux brins de l'hélice d'ADN sont séparés sous l'effet d'une température élevée (>90°C).
- Une étape d'hybridation : les amorces s'accrochent au niveau de leur séquence cible à la température de fusion qui leur est propre (entre 40 et 65°C en général).
- Une étape d'élongation : la polymérase synthétise l'ADN à partir des amorces (à environ 72°C). Cette étape est couplée à l'étape d'hybridation lors d'une PCR en temps réel (real time PCR).

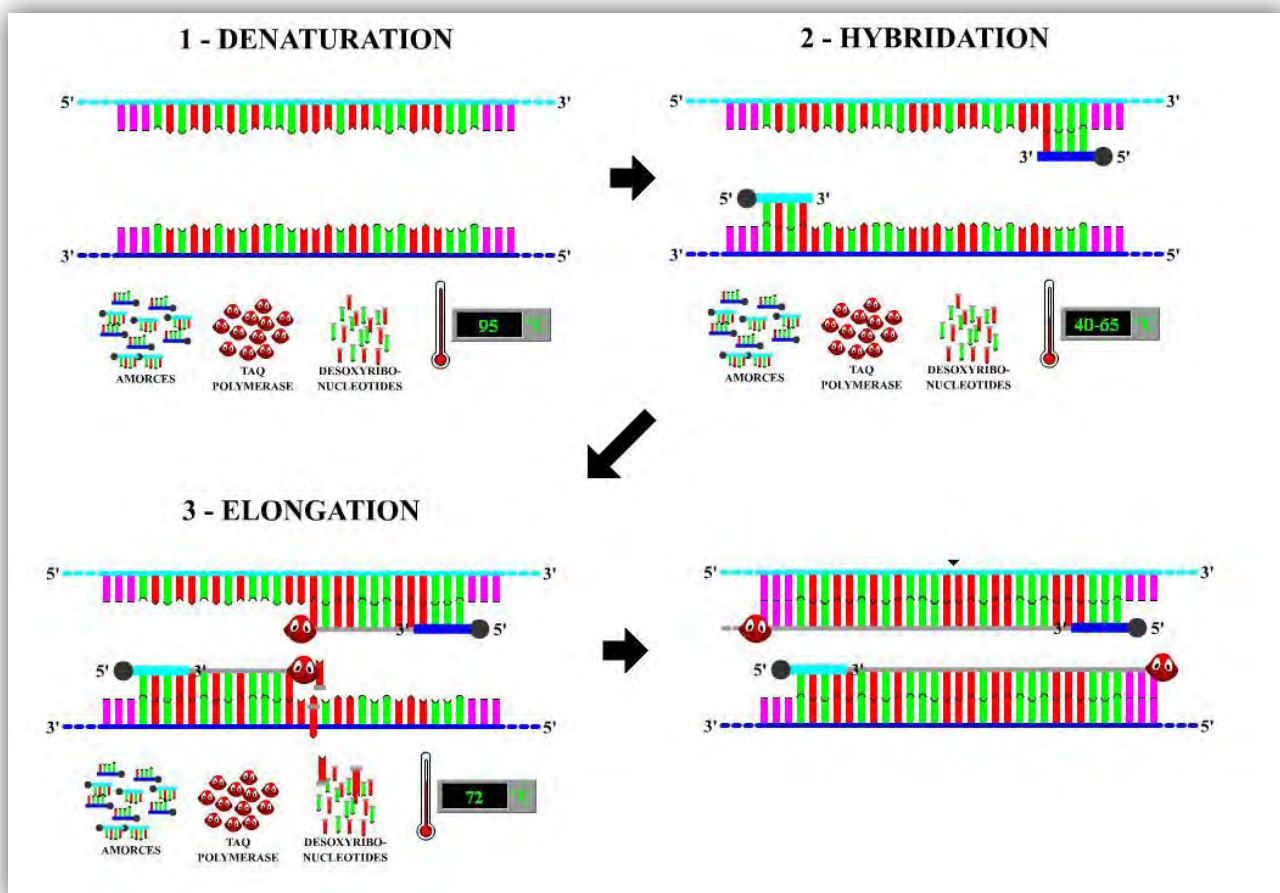


Figure 10: Cycles de la PCR ⁸²

Les produits synthétisés au premier cycle servent de matrice au cycle suivant et ainsi de suite. On obtient un nombre exponentiel de séquences d'ADN cible. Ainsi, 20 cycles multiplient la séquence $2^{20} = 1.048.576$ fois, soit plus d'un million de fois.

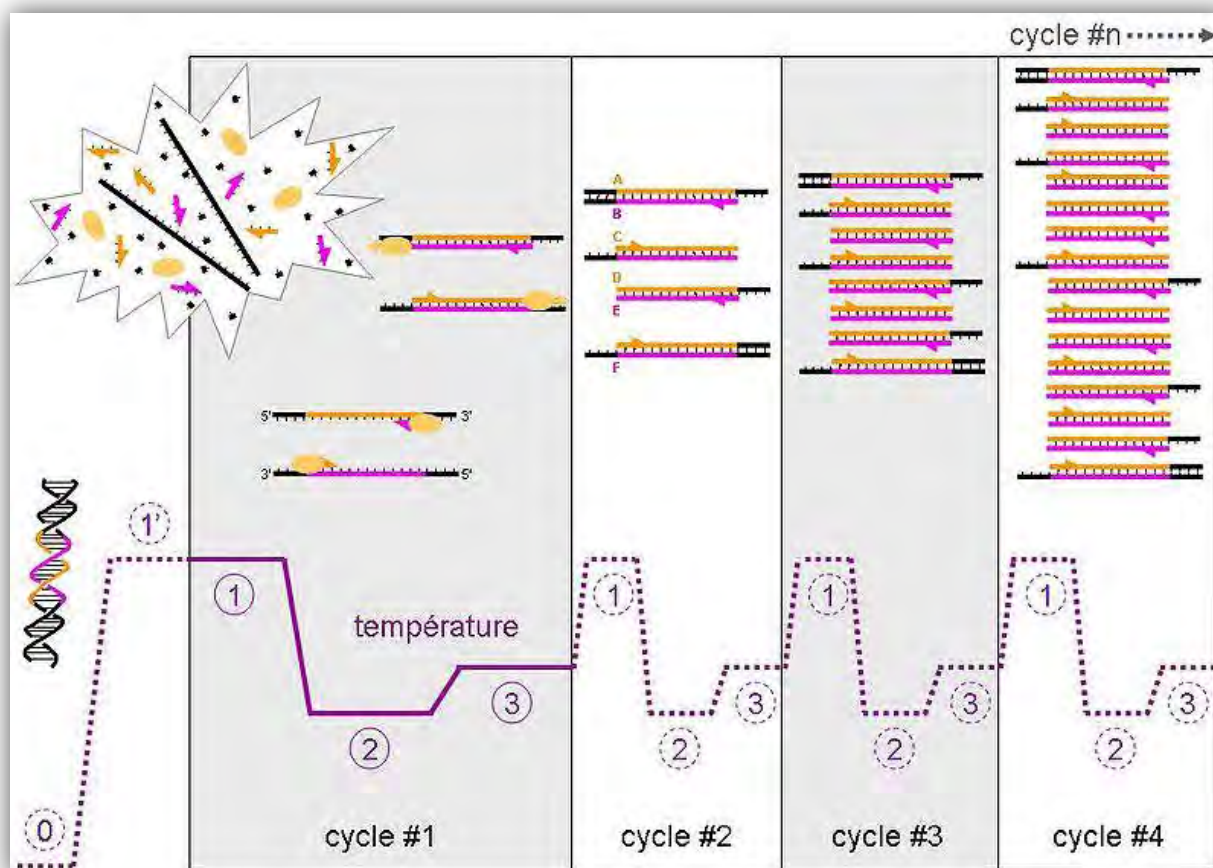


Figure 11: Principe de l'amplification par PCR ⁸³

c- Type d'acide nucléotidique amplifié

La PCR amplifie une séquence d'ADN précise (voir paragraphe ci-après). Etant donné que le FeLV est un rétrovirus à ARN, il n'est pas toujours sous forme ADN : ainsi, la PCR détectera le virus quand il sera sous forme de provirus intégré au génome cellulaire ou juste avant l'intégration à ce dernier, mais il ne fait pas la distinction entre ces deux étapes.

d- Choix de la séquence à amplifier et des amorces

Comme décrit précédemment, le génome du chat domestique contient 2 séquences d'ADN particulières, dont l'une est homologue à celle du FeLV exogène. Cette séquence est appelée FeLV endogène. Ce sont des séquences intégrées de façon stable dans le génome cellulaire et qui se comportent comme n'importe quel autre gène cellulaire. Ainsi, le génome haploïde de chat peut posséder jusqu'à 108 copies du FeLV endogène ⁶⁴. Il convient donc de faire la distinction de façon nette entre FeLV

exogène et FeLV endogène avec la technique PCR ⁴². Ceci est rendu possible par l'absence de la région U3 de la séquence LTR au sein du FeLV endogène, région par ailleurs hautement conservée dans les isolats de FeLV exogène ⁴², avec une homologie de séquence dépassant les 95%, quel que soit le sous groupe considéré (FeLV-A, B ou C) ^{33,35}. Cela fait de la région U3 une cible tout à fait appropriée pour la PCR ³³.

En réalité, la séquence à amplifier n'est pas uniquement constituée d'U3 mais également du gène *gag*. La séquence est donc à cheval sur U3 et *gag*, car c'est le gène le plus stable du génome viral, *env* et *pol* étant beaucoup plus variables ^{61,75}.

Le choix des amorces est également essentiel : il est d'ailleurs souvent réalisé à l'aide de programmes informatiques conçus pour le rendre optimal. Ces programmes préconisent également la température et la durée de l'amplification ⁶¹.

Les amorces doivent être différentes (en effet, chacune ne s'hybride pas avec la même séquence), ne pas s'hybrider entre elles ni se replier sur elles-mêmes et elles doivent avoir des températures de fusion proches. Enfin, elles ne doivent s'hybrider à l'ADN qu'en un seul lieu, au niveau de leur séquence cible, qui ne doit par conséquent pas se répéter ailleurs sur l'ADN, sous peine d'engendrer des amplifications non spécifiques. Il faut également être très attentif aux extrémités 3' des amorces, qui doivent impérativement se lier à la séquence cible pour permettre à la Taq-polymérase de se lier à l'ADN et de procéder à l'élongation ⁶¹.

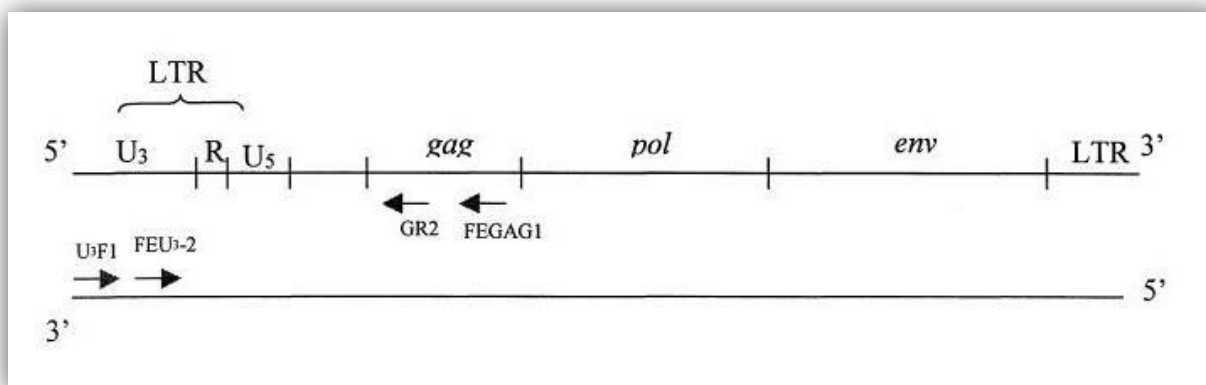


Figure 12: Localisation des amorces et de la zone à amplifier sur le génome du FeLV (exemples d'amorces) ⁷⁵

e- Réalisation des prélèvements et extraction de l'ADN ⁷⁵

Le sang doit être prélevé sur EDTA (acide EthylèneDiamine Tétra-Acétique) ⁶⁸ car les anti-coagulants à base d'héparine représentent des inhibiteurs potentiels de la Taq-polymérase. Les tissus biopsiés (ou prélevés lors d'autopsie) sont traités de préférence frais ou congelés (ils peuvent être envoyés directement au laboratoire sous couvert du froid, voire même à température ambiante), ou à défaut fixés à l'aide de formol ou de liquide de Bouin aqueux, mais ces derniers altérant les acides nucléiques, ils ne sont pas recommandés. Plus un tissu a été fixé longtemps au formol, plus l'extraction est difficile ^{7,75}. La PCR permet en effet de rechercher une portion d'acide nucléique sur des prélèvements très variés : écouvillons buccaux, tissus tumoraux, moelle osseuse, nœud lymphatique, épanchement, tumeur aqueuse, liquide céphalo-rachidien...⁷

Il est bien entendu impératif de joindre à tout prélèvement une fiche comportant les commémoratifs ainsi que l'anamnèse de l'animal concerné.

Avant de réaliser les cycles d'amplification, il est nécessaire d'extraire l'ADN, soit à partir du sang total, soit à partir des tissus prélevés. La méthode classique d'extraction au phénol-chloroforme étant longue et délicate à réaliser, cette étape est généralement réalisée à l'aide de kits spéciaux d'extraction, du type High Pure PCR Template Kit[®] (Boehringer Mannheim) ou encore DNeasy blood kit[®] ou QIAgen tissue kit[®] (Qiagen, Crawley, UK) ^{33,68}, qui permettent de réaliser plus simplement les différentes étapes de centrifugation, ajout de protéinases, etc.

L'acide nucléique ainsi obtenu est très stable, et les prélèvements peuvent alors être conservés à 4°C jusqu'à une semaine, ou congelés (-20°C à -70°C) ^{69,75}.

f- Détection des produits d'amplification ⁷⁵

A l'issue des cycles d'amplification, les produits de la PCR sont déposés dans des puits sur gel d'agarose contenant du bromure d'éthidium (ou d'autres intercalants de l'ADN), ce qui rend les molécules d'acide nucléique fluorescentes sous les rayons ultra-violet.

Les acides nucléiques sont séparés par électrophorèse selon leur taille : sous l'effet d'un champ électrique, les brins d'ADN néoformés migrent dans le gel d'agarose et parcourent une distance inversement proportionnelle à leur longueur, donc leur poids.

Différents marqueurs de poids moléculaires sont disposés sur le gel en même temps que les échantillons, ce qui permet de créer une échelle et d'en déduire la taille des fragments obtenus.

Il existe d'autres techniques de détection des produits de la PCR, par colorimétrie ou chimioluminescence (ELISA et amorces biotinylées, sonde ADN biotinylée...)

g- Sensibilité et spécificité de la PCR

Cette technique a quasiment remplacé l'isolement viral, en raison de ses performances techniques impressionnantes⁸¹. Ainsi, la plupart des publications concernant la PCR font état d'une sensibilité de détection de l'ordre de 1 pour 10^5 (1 leucocyte pour 10.000 cellules sanguines nucléées)⁷⁵.

La spécificité du test réside dans l'obtention d'un fragment d'ADN de la taille attendue. L'identité des produits peut néanmoins être confirmée par digestion par des enzymes de restriction, par le séquençage du fragment, ou encore par l'utilisation d'une sonde à ADN⁷⁵.

Ainsi, la PCR est considérée par certains chercheurs comme présentant une sensibilité et une spécificité proches de 100%, encore meilleure que l'isolement viral³⁷.

h- Avantages et inconvénients

Cette méthode permet de détecter la présence d'une portion d'acide nucléique viral dans n'importe quel tissu, sous réserve de validation par le laboratoire : en effet, lorsque l'infection est localisée, comme par exemple dans le cas d'une tumeur lymphoïde, il n'y aura peu ou pas d'antigènes viraux dans le sang, donc des tests de détection de la p27 négatifs, mais il sera possible d'amplifier de l'ADN proviral présent dans les cellules tumorales⁷⁵.

La PCR permet également de détecter des virus qui ne se multiplient pas (virus latents ou défectifs) ou qui sont présents en quantité infinitésimale, échappant ainsi à la détection des tests de diagnostic rapides⁷⁵.

Il apparaît donc que la PCR est un excellent moyen diagnostic, particulièrement pour les chats infectés latents (non virémiques) et pour ceux présentant des infections localisées^{37,52,68}. L'intérêt clinique du diagnostic en l'absence de virémie sera discuté ultérieurement.

Enfin, la méthode est automatisable, ce qui diminue le risque d'erreur technique.

Malheureusement, cette technique à la sensibilité extrême présente justement l'inconvénient d'être trop sensible, et de détecter ainsi des faux positifs. En effet, la moindre erreur de manipulation peut engendrer des résultats faussement positifs par contamination, amplifiant alors des fragments indésirables. Il convient alors de travailler avec le plus grand soin, en prenant des mesures de précaution draconiennes, afin d'éviter toute contamination.

Afin de limiter les erreurs par excès, des contrôles positifs et négatifs sont systématiquement inclus lors de la manipulation. De plus, l'automatisation complète du système réduit les risques d'erreur technique de façon conséquente.

Une autre limite de cette technique est son coût élevé en matériel, ce qui la rend inutilisable par le praticien en clinique. Ce n'est donc pas un test réalisable au chevet du patient. Néanmoins, il est possible d'obtenir des résultats en 24h en envoyant un prélèvement au laboratoire, c'est donc une technique plus rapide que l'isolement viral (mais il faut évidemment compter les délais de transport, dans tous les cas) ⁷⁵.

Ainsi, un résultat obtenu par PCR doit toujours être interprété avec vigilance, à la lumière des examens cliniques. Outre les risques de faux positifs par contamination, l'amplification d'une portion d'ADN d'un agent pathogène ne signifie par forcément pour autant que cet agent pathogène est responsable des troubles dont souffre l'animal. En effet, la PCR peut détecter un micro-organisme présent en quantité infime dans l'organisme et n'ayant pas forcément d'influence sur l'état de santé de l'animal ^{35,75}.

i- Variante de la PCR : nested-PCR (PCR nichée) ⁷⁵

Il s'agit d'une PCR en 2 étapes : en premier lieu, une PCR s'effectue de manière classique, avec des amorces spécifiques. Les produits ainsi obtenus servent alors de matrice à une 2^e PCR avec de nouvelles amorces, différentes des premières, et choisies de telle sorte à ce qu'elles soient plus « internes » aux précédentes sur la molécules d'ADN :

- Plus vers 3' pour le brin 5'-3'
- Plus vers 5' pour le brin 3'-5'

Grâce à la double amplification, cette technique est encore plus sensible que la PCR classique. Le mélange réactionnel de la 2^e PCR permet également de diluer les éventuels inhibiteurs présents lors de la première PCR. Enfin, la 2^e PCR n'est possible que si la première a correctement amplifié la séquence cible : la spécificité de la méthode est ainsi accrue, car la spécificité de la réaction est ainsi vérifiée.

Cependant, cette sensibilité accroît les risques de contamination et les conséquences de ces contaminations : la PCR nichée requiert ainsi un travail d'autant plus rigoureux et précautionneux, et la réalisation de témoins négatifs. Elle n'est pas réalisée en routine.

j- La PCR en temps réel (real time PCR)

La PCR permet également d'obtenir des résultats quantifiés grâce à la PCR en temps réel, ou real time PCR (à ne pas confondre avec la RT-PCR, décrite ci-après). L'intégralité de la cinétique mesurable (au-dessus du bruit de fond) est quantifiée. Les données de fluorescence peuvent donc être exprimées en logarithme afin d'identifier facilement la phase exponentielle et mesurable, qui prend alors une apparence linéaire. Cette partie, alors appelée « segment quantifiable », permet de calculer la quantité d'ADN initial^{37,78}.

Cette variante de la PCR présente beaucoup d'avantages par rapport à la technique de base : en effet, le risque de contaminations est réduit en post-PCR, qui est l'étape la plus critique de cette technique. Les prélèvements peuvent être contaminés, et donc induire des faux positifs, à 3 moments au cours de la technique : lors du prélèvement (rare), lors de la manipulation en parallèle des échantillons (à gérer par l'opérateur en fonction de ses prélèvements), et enfin en post-PCR, lors de l'ouverture des tubes pour déposer l'ADN amplifié dans les puits de gel d'agarose, où il peut y avoir contamination via l'atmosphère. Or avec la PCR en temps réel, les tubes ne sont pas ouverts, la lecture se fait directement à travers la paroi du tube, ce qui permet de s'affranchir du biais de cette 3^e étape. La spécificité est donc bien meilleure en real time PCR.

De plus, lors de PCR en temps réel, les fragments amplifiés sont 3 fois moins longs que lors de PCR classique. Ceci, ainsi que l'usage d'une sonde spécifique, nommée Taq-Man, qui n'émet pas de fluorescence si non liée à son fragment d'ADN

spécifique, permet d'améliorer encore la spécificité et la sensibilité de la real time PCR.

Cette technique est considérée par certains chercheurs comme étant potentiellement le nouveau gold standard, en raison de ses performances excellentes, et de son utilisation possible en routine (en laboratoire spécialisé, bien entendu). En effet, tandis que l'isolement viral sur culture cellulaire n'est réalisable de façon fiable que dans des laboratoires très spécialisés tels que celui de Glasgow (Ecosse), la real time PCR est réalisée en routine dans un panel de laboratoires plus large, ce qui permet d'en faire un outil diagnostique plus abordable pour le praticien.

De plus, la technique en temps réel permet de donner un résultat plus précis qu'un simple résultat positif ou négatif, en évaluant la quantité d'acide nucléique initial, ce qui sera important dans l'interprétation d'un résultat positif, en permettant notamment de donner une bonne estimation de l'évolution de l'infection chez un animal, particulièrement en début d'infection. Ce principe ressort des données actuelles du terrain, telles qu'elles ont été constatées par le laboratoire Scanelis à Colomiers (31770). Ceci devra bien sûr être confirmé par des études ultérieures.

C'est à l'heure actuelle l'outil de diagnostic le plus fiable de toute la famille PCR, et celui à privilégier lors d'une demande d'analyse lors de suspicion de FeLV (après réalisation des tests rapides, comme nous le verrons en 3^e partie).

3- Recherche de l'ARN viral par RT-PCR

La RT-PCR, pour Reverse Transcriptase PCR, permet de réaliser une amplification à partir d'ARN au lieu d'ADN. Lors d'une amplification d'ARN (rétroviral dans le cas présenté ici), l'ARN viral est d'abord transcrit en ADN complémentaire, noté ADNc, par une enzyme recombinante ADN polymérase ARN dépendante, également appelée transcriptase inverse. Cette enzyme est thermostable et issue de la bactérie *T. thermophilus*⁷⁵.

Cette technique permet également d'obtenir des données chiffrées, tout comme la real time PCR, ce qui permet de calculer la quantité d'ARN viral initial. On l'appelle donc real time RT-PCR, ou RT-PCR en temps réel.

La différence majeure entre la RT-PCR et la PCR *sensu stricto* est que la PCR amplifie l'ADN proviral libre ou intégré au génome d'une cellule infectée alors que la RT-PCR amplifie l'ARN viral, qu'il soit libre dans le cytoplasme cellulaire ou encore encapsidé et circulant dans le sang et les sécrétions.

Cette méthode, bien plus sensible que la recherche de l'antigène p27, a montré récemment que des portions d'ARN viral pouvaient être présentes dans le plasma en l'absence d'antigénémie ³⁵.

Enfin, des publications récentes ⁸¹ démontrent que les taux d'ARN viral circulant et d'ADN étaient fortement corrélés et que les tests étaient quasiment identiques. Ceci semble indiquer que la grande majorité de l'ADN proviral intégré est transcriptionnellement active, même en l'absence d'antigénémie, tout en démontrant que la sensibilité et la spécificité de ces deux types de PCR sont identiques.

Il est intéressant de noter que la RT-PCR amplifie certes des fragments d'ARN, mais que pour obtenir une amplification de fragments d'ARN purs, il faut réaliser l'extraction/amplification sur sérum ou plasma, pour s'affranchir de la présence de toute cellule nucléée, dans laquelle pourrait être intégré de l'ADN proviral. Ainsi, lors d'une extraction sur sang total, la RT-PCR amplifiera à la fois de l'ARN viral, mais également de l'ADN proviral, et la distinction entre les deux sera impossible à faire.

b- Méthodes de détection indirectes

Les résultats sont difficile à interpréter concernant la recherche d'anticorps car un grand nombre de chats développent des anticorps contre leur propre FeLV endogène, c'est pourquoi de tels tests ont un intérêt clinique limité ⁴¹.

i- Recherche des anticorps anti-gp70 (AcSN) ⁶⁹

Bien que la réaction immunitaire à l'infection par le FeLV soit aléatoire et non corrélable de façon fiable au schéma d'infection subi par le chat, il est parfois utile de suivre la cinétique des AcSN, notamment pour évaluer l'ampleur de la réponse humorale après épreuve virulente chez un individu vacciné ou non.

Les AcSN sont titrés à l'aide d'un test immuno-enzymatique ELISA de blocage : il consiste à titrer les anticorps d'un sérum dans des séries diluées au tiers en les complexant avec des antigènes gp70 de synthèse et d'autres anticorps anti-gp70 de synthèse conjugués à une peroxydase puis en mesurant la densité optique du mélange ainsi obtenu.

Protocole : cf. *annexe 2*

ii- Recherche des anticorps anti-FOCMA

Dans certains laboratoires de recherche, les anticorps anti-FOCMA étaient recherchés, afin d'éventuellement détecter la présence d'un antigène associé à des phénomènes néoplasiques. Il a été observé plus tard que le FOCMA était une combinaison de plusieurs composants viraux, et que cette méthode était très difficile à établir et standardiser, ne donnant aucune valeur clinique à ce type de test ⁴¹.

2- Comparaison des tests

a- IFI/ELISA

Kerr et Smith ont comparé en 1995 les méthodes IFI et ELISA ⁵⁰ : 149 échantillons de chats suspects d'être infectés par le FeLV ont été analysés. Parmi ces échantillons, 16 chats furent détectés positifs en ELISA contre 46 chats par IFI. Il est intéressant de noter que les chats positifs à l'IFI et négatifs en ELISA faisaient partie de ceux dont la clinique reflétait le plus une infection par le FeLV : les résultats de l'ELISA semblaient donc erronés.

Cette étude suggère donc l'existence de faux négatifs en ELISA. Elle est toutefois discutable, car l'étude présente un biais de prélèvement : en effet, le sang destiné aux tests par IFI fut prélevé sur EDTA, ce qui peut engendrer des résultats positifs par excès. De plus, aucun gold standard (isolement viral) n'a été appliqué *in fine* aux échantillons testés, ne permettant pas de vérifier les résultats de manière certaine³.

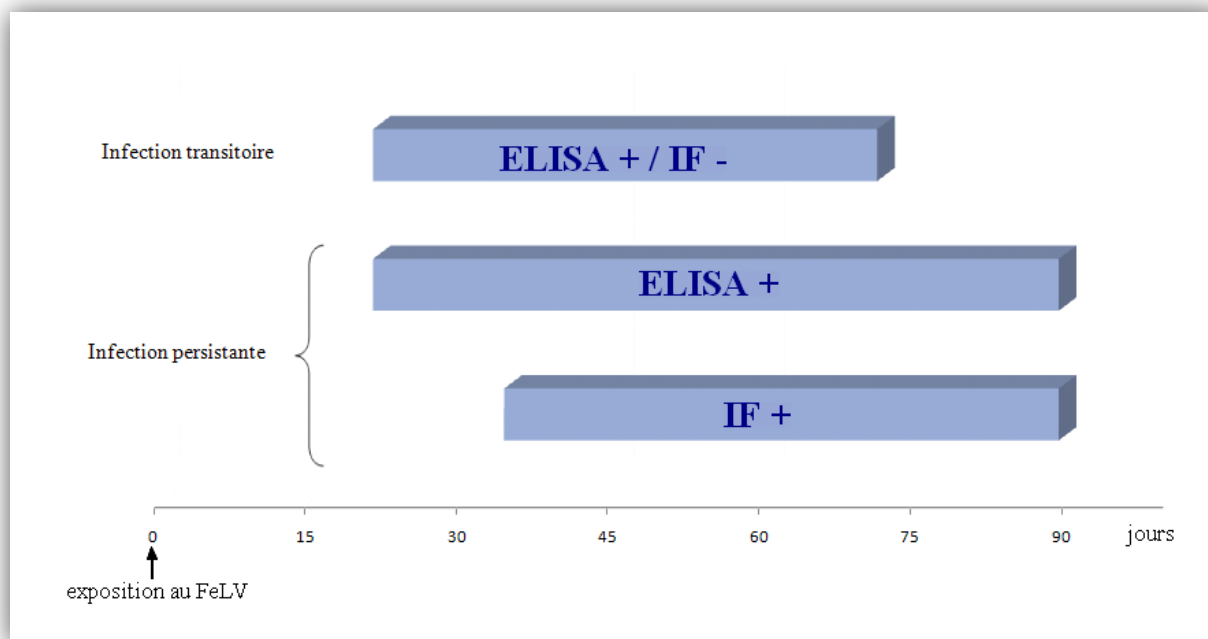


Figure 13: Variations des résultats des tests ELISA et IF selon l'état virémique de l'animal et la durée d'évolution⁷⁷

b- ELISA/RIM

Ces deux méthodes sont considérées comme équivalentes du point de vue de leurs capacités. Leur différence d'utilisation réside dans les caractéristiques techniques des produits commercialisés.

Les tests rapides d'immunochromatographie présentent l'avantage d'être individualisables (en ELISA, seuls les SNAP[®] par Idexx le sont), de ne pas nécessiter de conservation au frais, d'être faciles et pratiques d'utilisation et enfin d'être couplables avec des tests similaires pour le FIV (WITNESS[®] FeLV/FIV par exemple), qui est fréquemment testé en parallèle.

Certains tests ELISA sont réalisables sur salive (ASSURE®/FeLV). Un résultat positif sera alors interprété comme un état virémique persistant ⁷⁷.

c- PCR/RT-PCR

La corrélation entre ces deux méthodes similaires dans leur technique mais différentes dans leur but est en relation étroite avec la pathogénie du virus.

La cinétique des taux d'ADN et ARN après infection est décrite dans le schéma ci-dessous. On y remarque que si le cas des infections progressive (i.e. virémie permanente) et abortive est simple, le cas des infections régressives est complexe et que plusieurs scénarios sont possibles pour une même issue

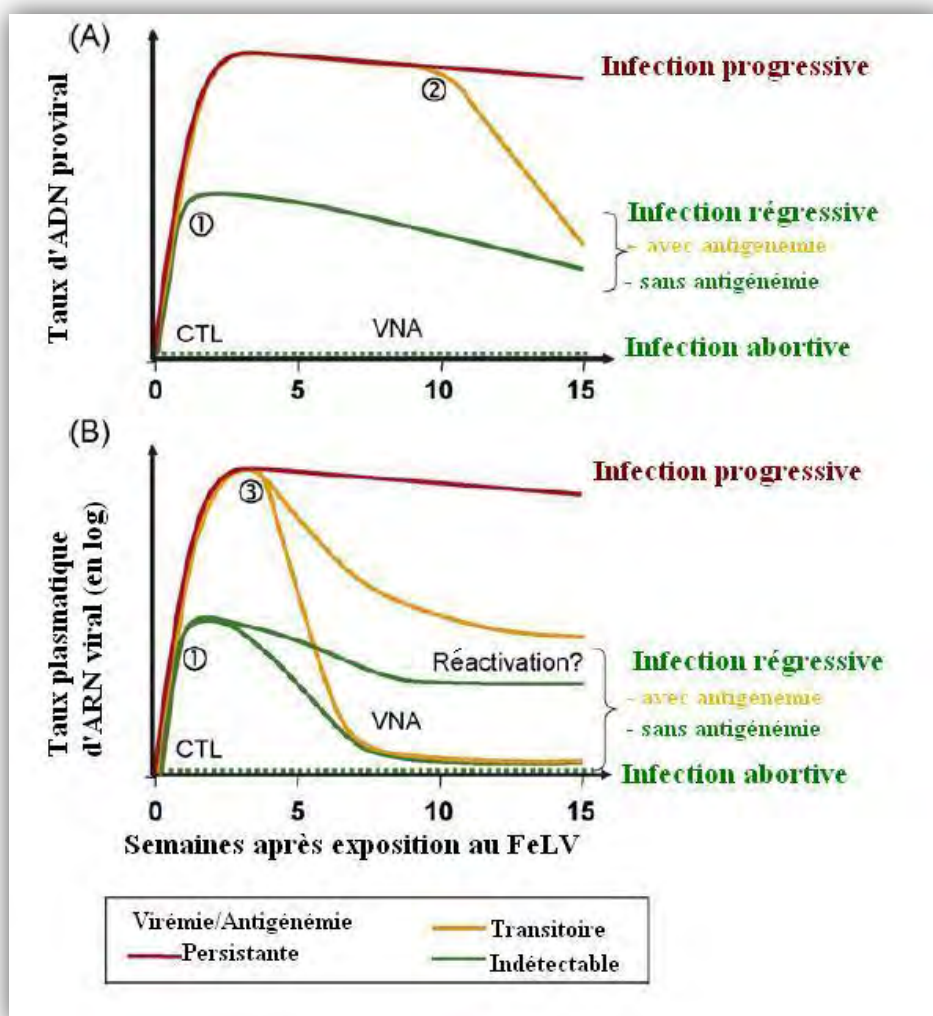


Figure 14: Cinétique des taux d'ADN proviral et des taux plasmatique d'ARN viral chez les chats selon les issues de l'infection ³⁷.

(1) Les taux d'ADN proviral et d'ARN plasmatique ne sont pas significativement différents parmi les trois groupes durant la première semaine après exposition au virus.

(2) Les taux de provirus ne sont pas significativement différents entre les chats présentant une antigénémie transitoire ou persistante avant la semaine 12.

(3) Les taux d'ARN viral plasmatique ne sont pas significativement différents entre les chats présentant une antigénémie transitoire ou persistante avant la semaine 5.

Ces courbes présentent donc des variations entre les taux d'ADN proviral et les taux d'ARN plasmatique, mais il est intéressant de noter que ces différences sont principalement perceptibles durant les premières semaines après exposition au FeLV. Au fil des jours, la différence s'amenuise jusqu'à devenir insignifiante. Or il est rare, en clinique, d'avoir à diagnostiquer un chat récemment infecté, c'est pourquoi la PCR et la RT-PCR (en temps réel) seront considérées comme étant des techniques globalement équivalentes pour une utilisation dans le cadre du diagnostic du FeLV en clientèle et ce, même durant les premières semaines, car les données actuelles du terrain (observées notamment au laboratoire Scanelis) montrent des courbes moins complexes et des résultats plus faciles à interpréter.

3- Conclusion : avantages/inconvénients de chaque test, utilisation pratique

Les différents tests décrits dans le 2^e chapitre sont résumés de façon pratique dans le tableau ci-dessous.

Type de test	Avantages	Inconvénients	Réalisation	Indication
MET	Sp +++	Se-, coût, chronophage	Laboratoire	Cadre expérimental
Culture cellulaire QN10	Se +++ Sp +++	Long, coût, difficile à réaliser	Laboratoire	Confirmation, cadre expérimental
Culture moelle osseuse	Se +++ Sp +++	Très long, coût	Laboratoire	Détection latence (Historique)
Immuno-diffusion	Sp +++	Grande quantité matériel	Laboratoire	
ELISA	Sp ++ Test sur salive, larmes	Se +, conservation au froid, mauvaise VPP si faible prévalence	Laboratoire/ terrain	1 ^{ère} intention
IFI	Sp ++ Se ++ Détection virémie persistante	Coût, matériel FN si infection récente	Laboratoire	Confirmation
RIM	Utilisation et conservation faciles, Sp ++	Se +, mauvaise VPP si faible prévalence	Terrain	1 ^{ère} intention
Hybridation moléculaire	Sp ++	Se -	Laboratoire	Cadre expérimental
PCR	Se+++, Sp+++	Coût	Laboratoire	Confirmation, recherche provirus
RT-PCR	Se+++, Sp+++	Coût	Laboratoire	Confirmation, recherche virus et provirus
Titrage AcSN	Cinétique AcSN	Peu révélateur de l'infection	Laboratoire	Cadre expérimental, test vaccin

Tableau 4: Avantages et inconvénients des tests disponibles

De nombreux tests sont utilisés uniquement dans un cadre expérimental et une partie des tests décrits ne sont plus utilisés désormais, car supplantés par de nouveaux tests plus faciles d'utilisation et/ou plus fiables.

En pratique, les tests utilisables sont principalement les tests rapides (ELISA, RIM) pour le praticien et pour le diagnostic de confirmation, les tests PCR/RT-PCR, notamment en temps réel et, dans une moindre mesure, l'IFI et l'isolement viral sur culture cellulaire.

Troisième partie

Interprétation des tests et démarche diagnostique

A la lumière de la deuxième partie de cet exposé, il apparaît qu'aucun test ne présente une sensibilité et une spécificité de 100% tout en étant réalisable au chevet du patient et à un coût modéré. Afin d'établir le diagnostic le plus précis concernant le scénario d'infection subi par le chat, il convient alors de faire intervenir plusieurs tests, selon leurs caractéristiques et ce qu'ils permettent de conclure. C'est cette interprétation des tests qui sera détaillée au cours de ce paragraphe.

I- Interprétation des tests

1- Importance de l'état de santé et des commémoratifs de l'animal

Comme nous avons pu le voir précédemment, la prévalence est très variable selon l'état de santé du chat. Ainsi, un test ne sera pas interprété de la même manière au cours d'une consultation vaccinale classique d'un jeune chat en bonne santé ou en présence d'un chat anémié.

2- Interprétation d'un test ELISA ou RIM

Il s'agit souvent de la première étape de la démarche diagnostique menée chez le praticien. Comme nous avons pu le voir dans la 2^e partie, la prévalence de l'infection par le FeLV est un facteur extrêmement important dans l'interprétation d'un test rapide. Les techniques d'ELISA et d'immunomigration rapide (RIM) sont traitées ensemble car présentant les mêmes caractéristiques tant du point de vue des techniques que du point de vue des performances.

a- Interprétation d'un résultat positif

i- Infecté persistant

Si le chat ne peut éliminer le virus au cours de 12 semaines suivant l'infection, il est alors très probable qu'il restera constamment virémique. Ce type de chat souffrira alors, à plus ou moins long terme, d'un phénomène néoplasique ou d'une maladie associée au FeLV et a donc par conséquent une espérance de vie très réduite (*cf.* 1^{ère}

partie, IV-2a). Le principal problème dans la gestion d'un tel chat est que ce dernier excrète du virus en permanence et en grande quantité, faisant courir un risque important à tout chat potentiellement en contact avec lui ¹².

ii- Virémique transitoire

L'animal se trouve en phase d'élimination du virus au cours des 12 semaines suivant l'infection. Il convient cependant de noter que la détection d'un chat pendant une infection passagère est relativement rare ¹².

iii- Faux positif ou résultat discordant

Comme décrit en 2^e partie de cet exposé dans la partie consacrée aux statistiques, la fréquence de faux positifs en cas de prévalence faible de la maladie est très élevée, même avec un test à 99% de sensibilité. Ainsi, tout résultat positif chez un chat sain devra être mis en doute.

Des résultats faussement positifs se produisent la plupart du temps en raison de problèmes techniques (test mal utilisé, produits périmés, contamination, etc.). Ils sont à différencier des véritables faux positifs, que l'on rencontre dans le cadre d'une manipulation adéquate.

Lorsqu'un résultat faux positif est soupçonné et que l'on peut exclure un biais de manipulation, un nouveau test devra être réalisé, soit avec un test rapide 12 semaines plus tard, soit avec une méthode dite de référence avec prélèvement immédiat (isolement viral, immunofluorescence, PCR), en fonction des possibilités financières du propriétaire.

Des résultats discordants (recherche de la p27 positive, mise en évidence du virus négative) peuvent se produire au début d'une infection, ou si l'infection est devenue localisée de telle sorte que des particules de virus entières ne sont pas présentes dans la circulation générale.

b- Interprétation d'un résultat négatif

Un résultat négatif peut signifier :

i- Animal non exposé au virus

ii- Infection contrôlée

Absence d'antigénémie grâce à la réaction immunitaire.

iii- Infection précoce

Dans ce cas, l'infection n'a pas encore gagné la circulation générale ni la moelle osseuse, les commémoratifs et l'anamnèse sont essentiels : si le chat testé a récemment été en contact avec un chat malade, il est recommandé de répéter le test après 9 à 12 semaines ¹².

iv- Infection latente

v- Infection localisée

vi- Faux négatif

En pratique, ce cas est négligeable, les tests rapides étant considérés comme fiables concernant les valeurs prédictives négatives.

3- Interprétation d'un test IFI

a- Interprétation d'un résultat positif

i- Infection de la moelle osseuse

Contrairement à l'ELISA, l'IFI n'est positive que si la moelle osseuse est contaminée et relargue dans le sang des leucocytes porteurs de l'antigène p27 ³.

ii- Faux positif

Ce cas peut être rencontré en cas de prélèvement sanguin sur anticoagulant, notamment EDTA ^{3,49,75}, ou en cas de liaison des éosinophiles avec un conjugué utilisé lors de l'IFI ^{41,57}.

b- Interprétation d'un résultat négatif

i- Animal non exposé

ii- Infection contrôlée

iii- Infection récente

Avant l'infection de la moelle osseuse.

iv- Lors d'une leucopénie

FeLV induite ou non ³.

v- Infection localisée

Lorsque l'animal a au sein de son organisme un noyau d'infection libérant des antigènes mais pas de virus entier, le chat est positif en ELISA et négatif en IFI ⁵.

4- Interprétation d'un test PCR

a- Interprétation d'un résultat positif

De façon inattendue, des portions d'ADN proviral ont été détectées dans le *buffy coat* (*i.e.* la fraction d'un échantillon de sang non coagulé après centrifugation, contenant la plupart des globules blancs et des plaquettes) chez deux chats testés négatifs pour l'antigène p27 ³⁴. Ces résultats ont été confirmés par une expérience menée en 2005 par la même équipe ³⁵, prouvant par la même occasion qu'un vaccin considéré comme efficace (car protégeant de la virémie persistante) n'engendrait pas forcément une immunité « stérilisante » et que des portions d'ADN proviral et d'ARN étaient presque systématiquement détectables après infection expérimentale, indépendamment du statut vaccinal et de la virémie.

Néanmoins, l'équipe du Pr. Hofmann-Lehmann a montré que trois semaines après une infection expérimentale (par le FeLV-A), les chats virémiques persistants montraient des taux d'acide nucléique proviral plus élevés et une réponse immunitaire humorale plus basse que les chats qui dit « régressifs ». Des taux inférieurs d'ADN proviral étaient associés à une réponse immunitaire efficace ³⁴. De même, une étude récente a confirmé les observations ci-dessus et a précisé la cinétique d'infection par le FeLV :

la virémie persistante est associée à une virémie d'origine médullaire secondaire, alors que les chats régressifs ne présentent qu'un nombre limité de lymphocytes infectés ¹³.

Ceci permet de nuancer et d'affiner le diagnostic après réaction positive à la PCR. Un résultat positif en PCR signifie littéralement que des portions spécifiques d'acides nucléiques viraux ont été identifiées au sein de l'échantillon analysé, mais il ne précise en rien le scénario d'infection subi par le chat. L'analyse quantitative de la PCR, grâce à la real time PCR, permet par contre d'apporter quelques précisions quant aux conclusions d'un test positif.

i- Virémique persistant

En real-time PCR, les taux d'acide nucléique mesurés sont globalement élevés.

ii- Infection régressive

Dans ce cas, les taux d'acide nucléique mesurés sont plutôt faibles.

iii- Infecté latent

Idem

iv- Virémique transitoire

Plusieurs cas de figures sont possibles, selon l'intensité de la réaction immunitaire du chat, mais globalement, un chat virémique transitoire présentera un taux d'acide nucléique intermédiaire, plus élevé qu'un animal régressif (car il est en phase virémique), mais plus bas qu'un virémique persistant.

v- Infection atypique

Cf. ci-dessous

vi- Faux positif

La sensibilité extrême de la PCR engendre un risque d'amplifications non spécifiques, toutefois jugulé en partie par l'automatisation des techniques et l'utilisation de plus en plus courante de la PCR en temps réel.

b- Interprétation d'un résultat négatif**i- Non exposé****ii- Infection atypique**

Cf. ci-dessous.

iii- Mutation de la séquence cible à amplifier

En cas de mutation de la séquence cible, l'hybridation et/ou l'élongation peuvent ne pas se réaliser et induire un résultat négatif. Ce cas est heureusement rare et estimé à moins de 1% par les laboratoires pratiquant la real time PCR ⁷.

iv- Faux négatif

La sensibilité de la technique d'amplification par polymérase permet de détecter une cellule contenant un fragment d'ADN proviral parmi 10.000 cellules nucléées. Ceci permet de supposer que le risque de faux négatif est négligeable.

4- Interprétation d'un test RT-PCR

Les conclusions d'un test RT-PCR seront identiques à celles d'un test PCR en début d'évolution car de récentes études ont montré une corrélation fiable entre les deux tests, quel que soit le scénario d'infection subi par le chat ³⁷. Cette corrélation reste apparemment valable au long cours mais nécessite d'être confirmée par des études ultérieures.

a- Interprétation d'un résultat positif

- i- Virémique persistant**
- ii- Infection régressive**
- iii- Infecté latent**
- iv- Virémique transitoire**
- v- Infection atypique**

Cf. ci-dessous

- vi- Faux positif**

De façon similaire à la technique de PCR, la RT-PCR présente l'inconvénient d'être extrêmement sensible.

b-Interprétation d'un résultat négatif

- i- Non infecté**
- ii- Infection régressive**
- iii- Infection atypique**

Cf. ci-dessous

- iv- Faux négatif**

Tout comme pour la technique de PCR, le risque de faux négatif est négligeable voire inexistant.

Cas d'une infection atypique : Le résultat dépend de l'échantillon prélevé : dans le cas d'une infection localisée (pathologie tumorale, stomatite...) un échantillon prélevé sur le site de l'infection donnera des résultats PCR et RT-PCR positifs. Par contre, un échantillon sanguin pourra parfois se révéler négatif en PCR et RT-PCR car il n'y a pas forcément d'acide nucléique viral dans la circulation générale. Cependant, les performances en termes de sensibilité de la real time PCR et de la real time RT-PCR sont telles que ce cas est très rare.

II- Synthèse : localisation du virus et résultat des méthodes de détection

Cette synthèse est résumée dans le tableau ci-dessous, permettant de comparer les méthodes les plus utilisées avec celles utilisables en 2^e voire 3^e intention.

Localisation du virus	MET	Isolement viral	Isolement sur culture de MO	ELISA	IFI	RIM	PCR	RT-PCR	Remarque
Non infecté	-	-	-	-	-	-	-	-	
Virémique persistant	+	+	+	+	+	+	+	+	
Infection régressive	-	-	-	-	-	-	+	+/-	
Infecté latent	-	-	+	+/-	-	+/-	+	+/-	
Virémique transitoire	+	+	+/-	+	+/-	+	+	+	
Infection atypique	-	-	-	+	-	+	+/-	+/-	PCR réalisable sur tissu ou sang

Tableau 5: Localisation du virus et résultats des méthodes de détection

Ces derniers paragraphes permettent ainsi de compléter le schéma décrit en 1991 par Hoover et Mullins.

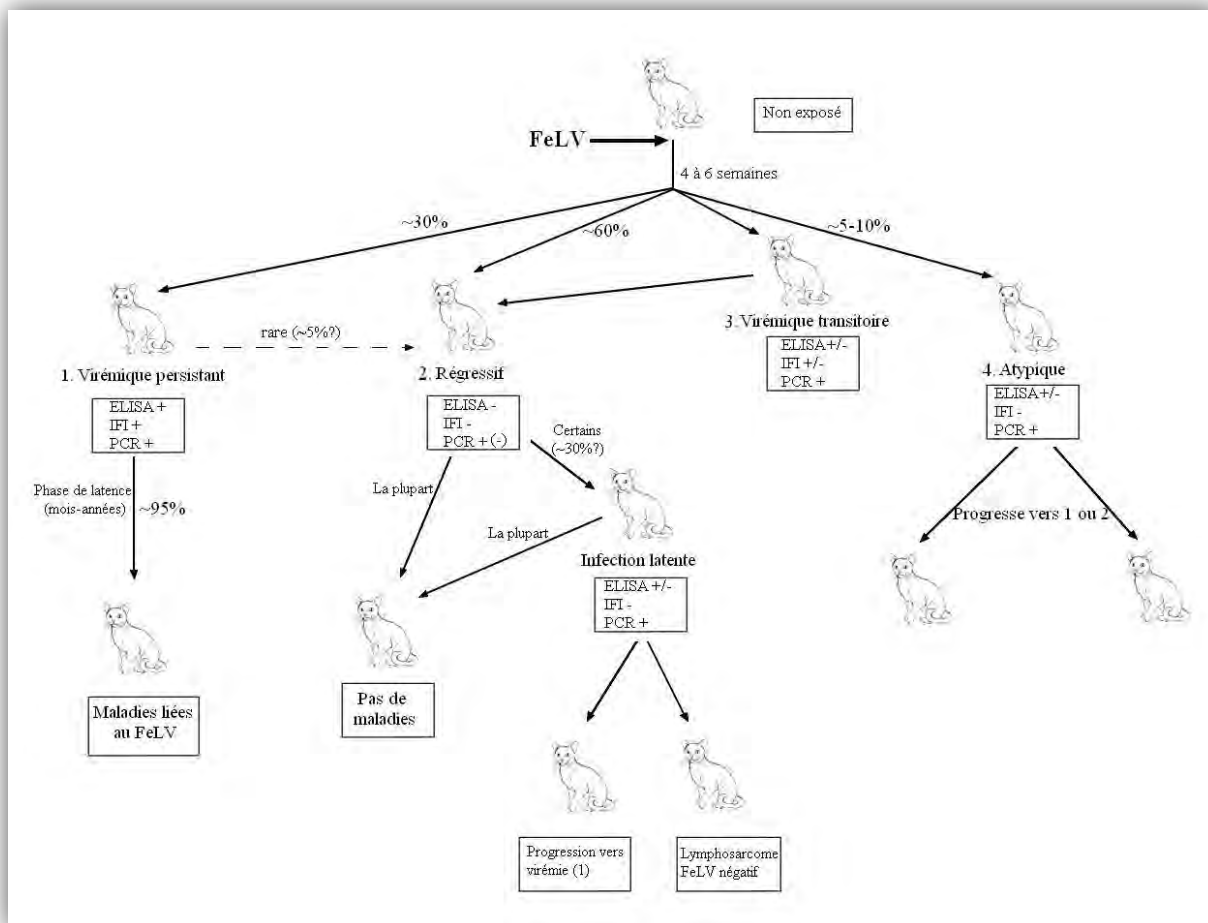


Figure 15: Modalités de l'infection par le FeLV chez le chat. D'après ³⁹

III- Modus operandi du praticien

L'infection par le virus leucémogène félin est une affection redoutée par les éleveurs et propriétaires de chats, et entre souvent dans le cadre du diagnostic différentiel lors d'affections chroniques, c'est pourquoi le praticien doit avoir une démarche rigoureuse face à cette affection.

Cette démarche comporte plusieurs étapes, mais suit le schéma classique d'un diagnostic

1- Questionnement du propriétaire

Le recueil de l'anamnèse et des commémoratifs auprès du propriétaire s'appuiera sur certains points importants concernant l'épidémiologie

a- Age de l'animal

Comme nous l'avons vu précédemment, les chatons sont beaucoup plus sensibles à l'infection que les adultes. Néanmoins un chat âgé et atteint de maladie chronique sera également suspect de FeLV.

b- Conditions de vie du chat

Globalement, on retiendra que le chat vivant en collectivité sans tests et sans vaccination est l'archétype du chat FeLV positif. Contrairement à ce que les propriétaires pensent souvent, le fait que le chat sorte n'est pas un facteur de risque majeur, contrairement à la vie en chatterie. Le questionnaire s'attachera donc à l'historique de l'animal (vivant ou ayant vécu en contact rapproché avec d'autres chats : refuges, SPA, élevages peu rigoureux, etc.), la durée d'exposition ainsi que le caractère du chat (un chat très sociable avec ses congénères aura plus tendance à pratiquer le léchage mutuel, et donc à être infecté qu'un chat asocial).

c- Antécédents médicaux

Cette partie du questionnement s'attachera à rechercher tout indice d'une affection chronique et/ou récidivante : mauvaise haleine et difficultés à se nourrir (pouvant indiquer une gingivite ou une stomatite chroniques), abattement, amaigrissement...

d- Conclusion

Ces différents points doivent permettre de donner une vague estimation de la population à laquelle appartient le chat, afin de savoir, globalement, s'il est considéré comme étant un animal « à risque » ou non.

2- Examen clinique

L'examen clinique général abordera plusieurs points, notamment concernant l'état d'embonpoint de l'animal : en effet, un chat FeLV+ est souvent amaigri ou présente un état altéré.

Cet examen clinique devra être particulièrement attentif concernant les différentes affections pour lesquelles le FeLV entre dans le diagnostic différentiel (liste non exhaustive):

- Néoplasies et tout syndrome paranéoplasique
- Anémies
- Thrombopénies
- Leucopénies
- Affections bactériennes ou virales chroniques ne régressant pas avec les traitements conventionnels
- Maladies de la reproduction
- Maladies de l'appareil digestif
- Insuffisance rénale chronique

La conduite à tenir sera alors différente en fonction de la présence ou non de signes cliniques, car le résultat du test rapide que l'on appliquera aura une valeur prédictive positive différente selon la prévalence (qui est très faible en l'absence de signes cliniques, et proche de 20% en présence de signes cliniques, comme décrit précédemment).

3- Réalisation d'un test rapide (ELISA ou RIM)

a- Conduite à tenir en absence de signes cliniques

En absence de signes cliniques, la prévalence estimée du FeLV est relativement faible (2-3%, voire moins selon le milieu de vie du chat). Néanmoins, il faut garder à l'esprit les conclusions du questionnement du propriétaire car cela influencera la décision après résultat du test rapide.

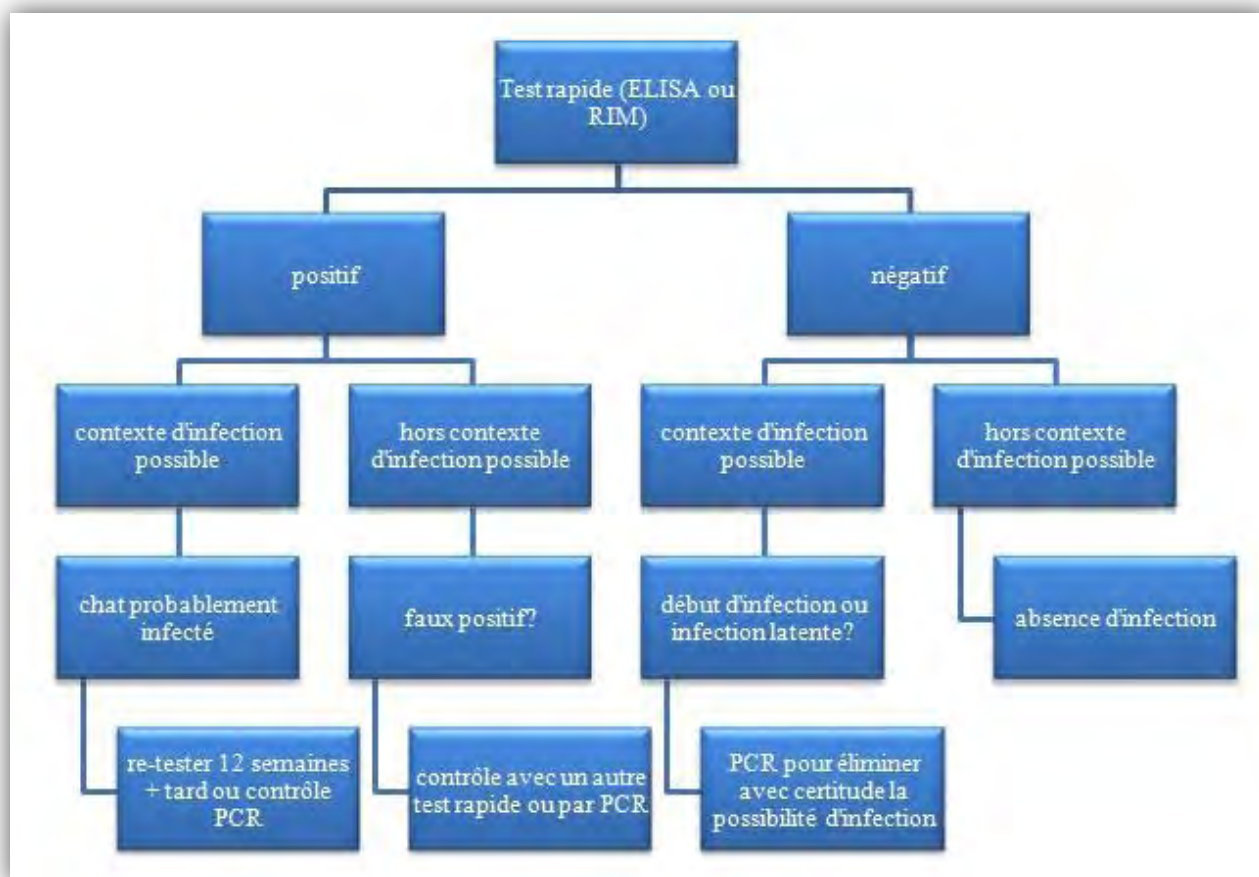


Figure 16: Conduite à tenir en absence de signes cliniques d'une infection par le FeLV ⁶

i- Résultat du test rapide positif

En cas de test positif, après avoir bien entendu vérifié la réalisation adéquate du test, il faut revenir à l'anamnèse et aux commémoratifs de l'animal, afin de savoir si un contexte d'infection est possible, comme par exemple un contact ces derniers mois avec un chat suspect de FeLV, mort récemment de maladie chronique, etc.

Si le contexte exclut une exposition au virus, il est très probable que l'on ait affaire à un faux positif. Néanmoins, il serait peu judicieux de se contenter de cette conclusion (à moins que le propriétaire refuse toute investigation supplémentaire) et il vaut mieux confirmer ce résultat, soit par une analyse PCR (en temps réel de préférence), soit par un autre test rapide. Pour autant, cela ne sert à rien de réaliser un nouveau test immédiatement après le premier, avec le même échantillon sanguin, le résultat attendu est similaire : il faut donc réaliser un nouveau prélèvement sanguin, éventuellement quelques jours plus tard.

NB : le praticien doit également être attentif au mode d'emploi de son test et le réaliser le plus rigoureusement possible. Par exemple, si le mode d'emploi indique que la lecture doit être réalisée au bout de 10 minutes, il ne faut pas attendre 12 ou 13 minutes pour lire le test, auquel cas le nombre de faux positifs est fortement augmenté. Les conditions de stockage des tests sont également très importantes, l'altération de ces derniers étant préjudiciable à leur bon fonctionnement.

Si le contexte rend une infection possible, il est probable que le chat soit infecté, auquel cas il faut contrôler le diagnostic par PCR en temps réel ou re-tester l'animal 12 semaines plus tard.

ii- Résultat du test rapide négatif

En cas de résultat négatif, le contexte d'infection est tout aussi important. Hors d'un contexte d'infection possible, la valeur prédictive négative élevée des tests rapides permet d'exclure une infection par le FeLV.

Mais si les commémoratifs et l'anamnèse laissent supposer une infection récente (quelques jours à quelques mois) par le FeLV, le chat peut alors être en début d'infection, avant la période virémique, ou infecté latent. Une analyse par PCR en temps réel sera alors utile pour éliminer avec certitude la possibilité d'une infection, ou, en cas d'analyse positive, pour déterminer si le chat est infecté latent (faible charge virale en PCR) ou en tout début d'infection (charge virale faible ou élevée, ce qui permettra de préfigurer du scénario d'infection que le chat subira).

b- Conduite à tenir en présence de signes cliniques

En présence de signes cliniques évocateurs, la prévalence du FeLV est estimée à 18-20% selon les auteurs, et la valeur prédictive positive des tests rapides est bonne.

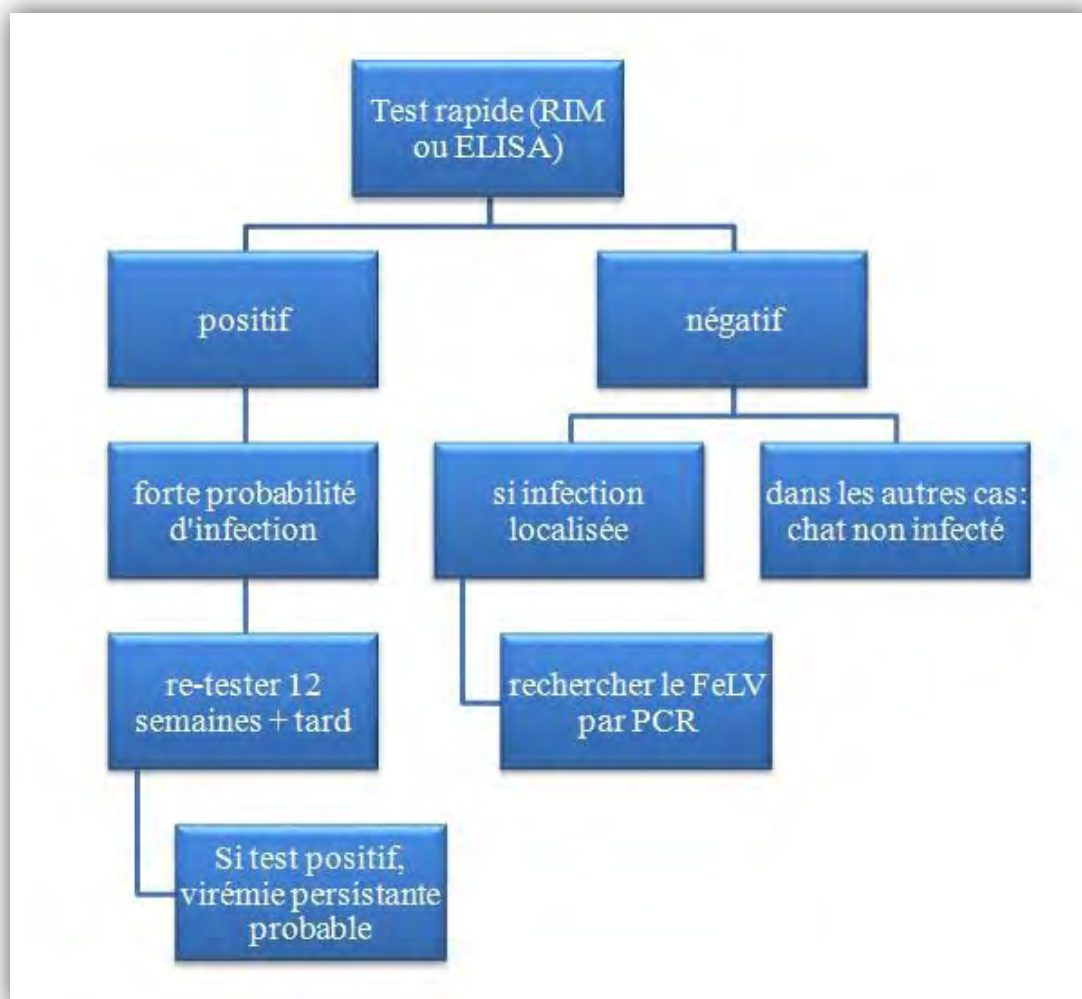


Figure 17: Conduite à tenir en présence de signes cliniques d'une infection par le FeLV ⁶

i- Résultat du test rapide positif

En cas de résultat positif chez un animal malade, la probabilité d'infection est très forte, et l'infection par le FeLV peut très probablement expliquer, du moins en partie, les symptômes de l'animal. Cependant, par précaution, il convient, si le propriétaire l'accepte ou le demande, de re-tester l'animal 12 semaines plus tard, ou éventuellement de réaliser une analyse par PCR afin de confirmer le statut virémique persistant du chat.

ii- Résultat du test rapide négatif

En cas de résultat négatif, deux cas de figures peuvent se présenter :

- Si le praticien soupçonne une infection localisée, il sera prudent de réaliser une analyse par PCR en temps réel, soit sur un échantillon prélevé sur le site de l'infection suspectée (masse palpable, gingivite...), soit sur un échantillon sanguin. Un résultat positif suggèrera alors une infection atypique localisée, tandis qu'un résultat négatif confirmera l'absence d'infection par le FeLV.
- Si le praticien ne soupçonne pas d'infection localisée, le chat est généralement considéré comme non infecté. Cela dit, si le propriétaire insiste, une analyse par PCR en temps réel permettra de confirmer le diagnostic du praticien.

A ce stade, le diagnostic peut être établi immédiatement dans certains cas, mais dans d'autres il devra être complété, selon le choix du praticien, soit par une analyse PCR, soit par un nouveau test rapide 9 à 12 semaines plus tard. Le choix entre ces deux options sera guidé en fonction des possibilités financières du propriétaire (l'analyse PCR étant relativement coûteuse) et de son empressement à avoir un diagnostic final.

4- Analyse par PCR (en temps réel)

L'analyse PCR fournira 3 types de résultats :

- Fortement positif : le chat est très probablement virémique persistant
- Négatif : le chat peut être considéré comme non infecté
- Faiblement positif : le chat peut être infecté latent, infecté régressif, virémique transitoire, ou encore subir une infection atypique. La distinction entre chaque cas sera à faire par le praticien en fonction de l'anamnèse, des commémoratifs et de l'examen clinique de l'animal.

A la réception des résultats de l'analyse, il peut être intéressant d'avoir un lien téléphonique avec le laboratoire afin d'analyser de façon optimale les résultats fournis par la PCR en temps réel.

5- Test rapide 12 semaines après le premier test

Plusieurs cas de figure peuvent se présenter, et sont résumés dans le tableau ci-dessous.

1 ^{er} test rapide	2 ^e test rapide	Conclusions possibles	Remarques
Positif	Positif	Virémique permanent Infection latente Infection atypique	La distinction entre les cas sera faite en fonction des commémoratifs + anamnèse + examen clinique + éventuellement PCR si un doute subsiste
Positif	Négatif	Infection latente Infection régressive	La distinction entre les cas sera faite en fonction des commémoratifs + anamnèse + examen clinique + éventuellement PCR si un doute subsiste
Négatif	Positif	?	En cas de doute sur un 1 ^{er} test rapide négatif, une analyse PCR est préférable

Tableau 6: Interprétation d'un test rapide 12 semaines après la première consultation

IV Conduite à tenir après le diagnostic

1- Le jour de la consultation

a- Chat non infecté

Au cas où le chat soit considéré comme sain, il convient de proposer au propriétaire un protocole vaccinal si cela s'avère utile (chat en contact avec des congénères, même occasionnellement).

Il est également conseillé d'informer le propriétaire sur cette affection, afin qu'il puisse contrôler au mieux les facteurs de risque d'infection (dépistage et mise en quarantaine de tout nouvel arrivant par exemple).

Enfin, en cas d'animal vivant dans des conditions d'infection potentielle, le propriétaire devra être informé des symptômes principaux à repérer pour consulter un vétérinaire au plus tôt.

b- Diagnostic non établi

En cas de résultat de test rapide nécessitant une confirmation, il convient d'expliquer au propriétaire l'intérêt d'une analyse par PCR ou d'un nouveau test rapide 8 à 12 semaines plus tard. En cas de suspicion d'animal infecté, on conseillera au propriétaire de maintenir son chat en quarantaine afin d'éviter toute éventuelle dissémination du virus.

2- Diagnostic lors du contrôle 12 semaines plus tard ou après analyse PCR

a- Non infecté

La marche à suivre sera identique à celle du point 1-a.

b- Virémique persistant

Face à un chat virémique persistant, plusieurs options s'offrent au propriétaire du chat, selon les conditions de vie de ce dernier, ses moyens financiers, la présence ou non de congénères, l'attachement du propriétaire à son chat, etc.

i- Conduite à tenir face à un chat FeLV+ symptomatique

Face à un chat malade FeLV positif, il sera possible d'envisager un traitement de soutien de l'animal couplé à des antiviraux et immunomodulateurs^{41,54}, en informant évidemment le propriétaire de l'absence de rémission possible et de l'issue fatale qui surviendra dans les semaines ou mois suivant la consultation. Beaucoup de propriétaires choisissent alors l'euthanasie. Néanmoins, cette question délicate doit être abordée avec tact et réflexion, en tenant compte du contexte : un chat malade mais ne souffrant pas de sa maladie pourra encore, éventuellement, passer quelques jours ou semaines dans sa famille, et n'être endormi que lorsqu'il montrera des signes de souffrance.

Néanmoins, certains traitements permettent de repousser provisoirement l'échéance¹⁴: lors de lymphome, une chimiothérapie est possible, car le statut FeLV positif ne

semble pas influencer la réponse au traitement. Lors d'anémie, une transfusion améliorera transitoirement l'état de l'animal, tout comme des antibiotiques permettront de juguler dans une certaine mesure les infections opportunistes. Enfin, en cas de fibrosarcome, une exérèse chirurgicale éventuellement couplée à de la radiothérapie sera envisageable, selon l'état du chat et la motivation de son propriétaire.

A ces traitements de soutien peut s'ajouter l'emploi d'antiviraux tels que la zidovudine (inhibiteur de la réverse transcriptase) à court terme chez des chats présentant des symptômes sévères ou d'immunomodulateurs tels que l'interféron α , γ et surtout ω . Néanmoins, ces traitements, notamment celui à l'interféron ω sont très coûteux, ce qui limite leur utilisation sur un chat considéré comme « condamné »^{14,54}.

ii- Conduite à tenir face à un chat FeLV+ asymptomatique^{14,17}

Un chat virémique persistant nécessite un suivi médical étroit. En effet, sa longévité sera fortement dépendante des soins préventifs fournis. Ainsi, il est recommandé d'éviter toute situation stressante, de nourrir le chat avec un aliment de haute valeur nutritionnelle et de le vacciner régulièrement avec des vaccins tués contre les autres affections qui peuvent l'affecter concomitamment. La vaccination contre le FeLV est sans intérêt car aucune preuve de son efficacité n'a pu être mise en évidence chez un chat FeLV+ asymptomatique. Il conviendra également de traiter précocement et de façon agressive toute infection concomitante qui se déclarerait.

Les principales mesures à mettre en place sont alors d'ordre hygiénique afin de prévenir la transmission du virus aux autres chats susceptibles d'être en contact avec le chat FeLV+. Au sein d'une chatterie ou d'un élevage, cela implique l'identification et la séparation (physique) du ou des chats infecté(s) ainsi que l'application d'un test de dépistage à tous les chats étant ou ayant été en contact avec le chat infecté. Les chats positifs sont alors isolés puis testés à nouveau 9 à 12 semaines plus tard ou testés par PCR. Les tests diagnostiques sont ainsi répétés jusqu'à ce que tous les chats résidents soient FeLV négatifs, les FeLV+ étant logés à part.

Dans le cas d'une petite chatterie où les chats FeLV négatifs cohabitent avec le chat infecté depuis plusieurs mois ou années, le propriétaire peut choisir de laisser les

animaux cohabiter. Néanmoins, il doit être informé que le risque de transmission, malgré le degré d'immunité acquis par les chats, est d'environ 10 à 15%. La vaccination de ces derniers sera conseillée, même si elle ne peut garantir une immunité totale dans un environnement à forte pression d'infection.

Dans le cadre d'un élevage, il est impératif d'écarter les chattes FeLV+ de la reproduction et de séparer les chatons FeLV négatifs de leur mère si cette dernière est FeLV+.

Enfin, l'accès à l'extérieur sera formellement interdit à tout chat FeLV+, et des mesures d'hygiène strictes devront être prises (et tenues) par le propriétaire, afin d'éviter la contamination indirecte des chats FeLV négatifs.

c- Infection latente

La conduite à suivre sera sensiblement la même qu'avec un chat virémique persistant asymptomatique. Le suivi par le propriétaire sera d'autant plus important afin de repérer au plus tôt les premiers symptômes d'une infection. Il faudra également surveiller de très près toute infection concomitante, notamment le FIV, susceptible de réactiver l'infection par le FeLV.

d- Infection régressive

Un chat régressif est supposé ne pas disséminer de virus. Aussi, il est théoriquement considéré comme cliniquement sain. Cependant, un suivi clinique attentif sera réalisé par le vétérinaire, au cours de la consultation vaccinale annuelle par exemple.

e- Infection transitoire

Il convient alors d'isoler provisoirement l'animal infecté, car il est contagieux pendant une période de 9 à 12 semaines environ. Des traitements adjuvants (antiviraux, immunomodulateurs) pourront éventuellement accélérer la « rémission ». Le praticien

surveillera alors la disparition de l'antigénémie avant de pouvoir déclarer le chat « infecté régressif ».

f- Infection atypique

En cas d'infection atypique, la conduite à tenir dépendra de l'affection dont souffre le chat. En cas de phénomène néoplasique, une exérèse pourra être envisagée si l'état de l'animal et la motivation du propriétaire le permettent. Dans tous les cas, une gestion similaire à celle d'un chat FeLV+ symptomatique pourra être proposée, afin d'éviter tant que possible le passage à l'état virémique persistant.

3- Conclusion

La conduite à tenir dépend évidemment du diagnostic que le praticien aura établi, mais également des moyens financiers et de la motivation du propriétaire. Ce dernier ne doit pas sous-estimer l'impact de l'apparition de ce virus au sein d'un groupe de chats, s'il en possède plusieurs. S'il n'en possède qu'un, ce qui concerne une grande partie des propriétaires de chats en France actuellement, il serait intéressant pour lui de chercher à savoir où son animal a pu être en contact avec le virus afin de gérer la « source » au mieux.

Néanmoins, dans tous les cas, il est primordial d'informer le propriétaire des modalités de transmission du FeLV afin de prévenir l'infection d'un chat non exposé, ou de prévenir la dispersion du virus dans l'environnement d'un chat atteint.

CONCLUSION

L'infection par le FeLV est complexe et son diagnostic rendu délicat par la variabilité des scénarios d'infection et des symptômes. Il existe également un grand nombre de tests diagnostiques, mais seule une faible partie possède des caractéristiques intrinsèques et extrinsèques les rendant intéressants et utilisables pour le diagnostic du FeLV en clientèle.

Ainsi, la démarche diagnostique doit être extrêmement rigoureuse afin de ne pas omettre de détail important concernant l'anamnèse et les commémoratifs de l'animal, mais également l'examen clinique général. En effet, l'interprétation du résultat d'un test rapide dépend intrinsèquement de la prévalence supposée (par le praticien) de l'infection dans la population à laquelle appartient le chat.

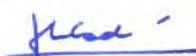
L'interprétation devra toujours se faire avec d'innombrables précautions, particulièrement en cas de résultat positif. En admettant que le résultat positif soit fiable (pas de faux positifs), il ne constitue en aucun cas en un diagnostic refuge d'infection par le FeLV tant la positivité du test ne reflète ni la virémie, ni le stade, ni le scénario d'infection que développe le chat.

Dans de nombreux cas, une confirmation est nécessaire afin de pouvoir préciser le scénario d'infection et poser un diagnostic et un pronostic. Cette confirmation passe principalement par la PCR en temps réel, qui est une technique de pointe et d'avenir dans le domaine du diagnostic. Enfin, une fois le diagnostic établi, il appartiendra au praticien de dicter la marche à suivre à son client, et ce à plus ou moins long terme.

La prise en charge de l'affection par le FeLV est délicate et doit impérativement être réfléchie au cas par cas dans un premier temps (diagnostic), mais également à l'échelle de la population à laquelle appartient le chat, afin d'en maîtriser l'épidémiologie.

Le Professeur responsable

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon



Vu : Le Directeur

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Par délégation
Pr F. Grain - DEVE

VetAgro Sup
Campus Vétérinaire

Le président de la thèse



Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 26 AVR. 2010

Pour le Président de l'Université

Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales

Professeur F.N GILLY



Annexe 1

Tableau récapitulatif des affections liées au FeLV

Cf. page suivante

Type d'affection	Type de chat	Symptômes	Généralisé/local	Pourcentage de chats Fel V+ parmi les chats affectés	Fréquence de l'affection chez les chats Fel V+		
Tumoral	Lymphome	Médiastinal	Local	80%			
						Vieux	Dyspnée par épanchement pleural, régurgitations, syndrome de Claude Bernard Horner (CBH)
		Tout âge	Non spécifiques	Généralisé	80%		
						Neurologique	Parésie postérieure, épilepsie, ataxie...
		Oculaire	Uvéite, glaucome	local	Souvent +		
						Rénal et cutané	6-8ans
		Myélo-dysplasie	(état pré-leucémique)				
						Leucémie	Différents types selon cellules souches affectées
		Fibro-sarcome	Multiple	Jeune (1-7ans)	local		
						Ostéo-chondromes	(rare)
Non tumoral	Anémie	Non régénératives (+ freq)	Jeune	Abattement, muqueuses pâles, souffle cardiaque...			
						Régénératives	Jeune
		Thrombo-pénie		Hémorragie	Généralisé/local		
						Leucopénie	
Myélo-fibrose		Anémie ? érythropoïèse extra-médullaire dans foie + rate					

20% des décès sont dus aux ma-lades tumorales

Maladies de la reproduction	Chez la femelle reproductrice		Avortement, résorptions fœtales, prématurés, mortalité néonatale	Généralisé		80%
	Chez les chatons		<i>Fading kitten syndrom</i> : anorexie, déshydratation, hypothémie, mort en 8-12 semaines Immunodépression chronique (atrophie thymus)	généralisé		
Neuropathies			Anisocorie, mydriase persistante, CBH, incontinence urinaire, vocalisations, hyperesthésie, parésie, paralysie...		Parfois co-infection par toxoplasmose ou PIF	rare
	Maladies secondaires à l'infection	Stomatites, gingivites	Difficultés à se nourrir, halitose...		Souvent +	
Dépôts d'immuns-complexes	Hémobartonellose, PIF, typhus, poxvirose, Cryptococcose, Toxoplasmose		Symptômes de la maladie, ne régressant par après traitement			
	Glomérulonéphrite		Insuffisance rénale chronique			
	polyarthrite	Mâle			60% (100% FeSV+)	80%
Maladies de l'appareil digestif	Entérite chronique		Cachexie, anorexie, diarrhée chronique, vomissements			
	Maladies inflammatoires et dégénératives du foie				Parfois +	

Protocole de recherche des anticorps séro-neutralisants

- Jour 1 : diluer en série au tiers le sérum à tester et l'incuber avec de l'antigène purifié (gp70) pendant 18h à 4°C. Puis prélever 100µl du mélange « antigène-sérum » et le transférer sur des plaques sensibilisées à un anticorps monoclonal de capture anti-gp70. Incuber une nuit à 4°C.
- Jour 2 : laver les plaques et ajouter 100µl d'un anticorps monoclonal anti-gp70 conjugué à la peroxydase. Après une heure de contact à 37°C, laver les plaques et les incuber avec un substrat TMB® (Synbiotics®) pendant 30min à température ambiante. Puis stopper la réaction par l'ajout de 25µl d'acide sulfurique 2N. Les densités optiques sont lues à 450 et 630nm, avec validation à l'aide de sérums positifs et négatifs de référence.

Le titre en anticorps est ainsi défini comme l'inverse de la dilution de sérum, ce qui correspond à une densité optique égale à 50% de la densité optique maximale, et est exprimé en logarithme décimal (log₁₀).

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ATHAS Grace, et al. «Genetic Determinants of Feline Leukemia Virus-Induced Multicentric Lymphomas.» *Virology* 214, 1995: 431-438.
- 2- BABYAK, S-D et al. «Evaluation of a saliva test kit for feline leukemia virus antigen.» *Journal of the American Animal Hospital Association* 32,5, 1996: 397-400
- 3- BARR, M-C. «FIV, FeLV and FIPV: interpretation and misinterpretation of serological test results.» *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)*, 11, 1996: 144-153.
- 4- BERTHON, A-F et al. «Diagnostic expérimental du syndrome immuno-déficitaire féline par ELISA et Western Blot. Confrontation des résultats aux données cliniques et épidémiologiques.» *Revue de Médecine Vétérinaire* 146, 12, 1995: 855-862.
- 5- BIZIEN, Elodie. «Contribution à l'étude de l'épidémiologie de l'infection du chat par le FeLV et le FIV: étude de la survie chez des chats malades et sains en Haute-Garonne.» *Thèse de doctorat vétérinaire*. Toulouse, 2001.
- 6- BOUCRAUT-BARALON, Corine. «Diagnostic de laboratoire des rétroviroses félines.» *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, juin-juillet 2000: 45-47.
- 7- BOUCRAUT-BARALON, Corine. «La PCR: choix et réalisation des prélèvements, interprétation des résultats.» *PratiqueVet*, 2008 (43): 142-125.
- 8- BRALEY J., et al. «FeLV and FIV: survey shows prevalence in the United States and Europe.» *Feline Practice* 22, 1994: 25-29.
- 9- BUCHET, E. *Contribution à l'étude du FeLV: immunologie et applications vaccinales*. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 1988.
- 10-CADEOT Laurence. «Etude expérimentale de l'efficacité de trois vaccins contre la leucose féline.» Faculté de médecine de Nantes, 1995.
- 11-CAMPBELL DJ, et al. «Age-related differences in parameters of feline immune status.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2004: 73-80.

- 12-CANEY, Sarah. «Feline Leukemia Virus: an update.» *In Practice*, 22 (7), juillet/aout 2000: 397-401.
- 13-CATTORI V., et al. «Real-time PCR investigation of feline leukemia virus proviral and viral RNA loads in leukocyte subsets.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008: 124-128.
- 14-CHABANNE Luc, JONGH-ARAGON Alexia. «Conduite à tenir face à un chat FeLV positif.» *Le Point Vétérinaire n°239*, octobre 2003: 40-43.
- 15-CHARREYRE, C., PEDERSEN, N. «Study of feline leukemia virus immunity. Colloquium of FeLV/FIV: tests and vaccination.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(10), 1991: 1316-1324.
- 16-CHENG H.H., et al. «Feline leukemia virus T entry is dependent on both expression levels and specific interactions between cofactor and receptor.» *Virology*, 2007: 170-178.
- 17-COHN, L-A. «Update on feline retroviral infections.» *SCIVAC*. Rimini, Italie, 2006. 22-23.
- 18-COTTER, S-M. «Feline Viral Neoplasia.» Dans *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, de C-E GREENE, 71-84. Philadelphia: WB Saunders Compagny, 1998
- 19-ESSEX, M. et al. «Antibody to Feline Oncornavirus-associated cell membrane antigen in neonatal cats.» *International Journal of Cancer*, 8, 1971: 384-390.
- 20-FONTAINE, J. «Skin Tumours in cats.» *SEVC*. Barcelone, Espagne, 2009.
- 21-FROMONT E., ARTOIS M., et al. «Modelling the feline leukemia virus (FeLV) in natural populations of cats (felis catus).» *Theoretical Population Biology*, juin 1997: 60-70.
- 22-FROMONT E., et al. «Prevalence and pathogenicity of retroviruses in wildcats in France.» *The Veterinary Record*, mars 2000.
- 23-FUJINO Y., et al. «Molecular pathogenesis of feline leukemia virus-induced malignancies: Insertional mutagenesis.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008: 138-143.

- 24-GUIOT A-L, POULET H. *Les rétroviroses*. Lyon: Merial, Cahiers du Vetomecum.
- 25-HARDY, W-D et al. «Biology of the feline leukemia virus in the natural environment.» *Cancer research*, 36, 1976: 582-588.
- 26-HARDY, W-D Jr. «Immunodiffusion studies of feline leukemia and sarcoma.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158, 1971: 1060-1069.
- 27-HARDY, W-D Jr. «Naturally occurring retroviruses (RNA tumor viruses).» *Cancer investigation*, 1, 1983: 67-83.
- 28-HARDY, W-D Jr. «The feline leukemia virus.» *Journal of the American Animal Hospital Association*, 17, 1981: 951-980.
- 29-HARTMANN K., et al. «Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection.» *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2007: 439-445.
- 30-HARTMANN, K et al. «Nouvelles méthodes de diagnostic biologique rapide des rétroviroses félines.» *CNVSPA*. Nice (France), 1998. 793-794.
- 31-HARTMANN, K et al. «FeLV infection.» *Revue de Médecine Vétérinaire*, 145, 3, 1994: 191-197.
- 32-HAWKS, D-M et al. «Comparison of four test kits for feline leukemia virus antigen.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199, 1991: 1373-1377.
- 33-HERRING, E-S et al. «Detection of feline leukaemia virus in blood and bone marrow of cats with varying suspicion of latent infection.» *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3, 2001: 133-141.
- 34-HOFFMANN-LEHMANN, R. et al. «Feline leukemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats.» *Journal of General Virology*, 82, 2001: 1589-1596.
- 35-HOFMANN-LEHMANN R., et al. «Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays.» Zurich, 2005
- 36-HOFMANN-LEHMANN R., et al. «Vaccination against the feline leukemia virus: Outcome and response categories and long-term follow-up.» *Vaccine*, 2007.

- 37-HOFMANN-LEHMANN R., et al. «How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008: 119-123.
- 38-HOHENHAUS, A-E. «Myelodysplastic Syndromes.» *NAVC*. Orlando, Florida, 2005. 388-389.
- 39-HOOVER, E-A et al. «Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection.» *Journal national of the cancer institute*, 57, 1976: 365-369.
- 40-HOOVER, E-A, MULLINS, J-L. «Feline leukemia virus infection and diseases.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199,, 1991: 1287-1297.
- 41-HOSIE M.J, FRYMUS T. et al. «ABCD Guidelines on Feline Leukemia Virus.» *European advisory board on cat diseases*, octobre 2007.
- 42-JACKSON, J-L et al. «Feline leukemia virus detection by ELISA and PCR in peripheral blood of 68 cats with high, moderate or low suspicion of having FeLV related disease.» *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8, 1996: 25-30.
- 43-JACOBSON, R-H, LOPEZ, N-A. «Comparative study of diagnostic testing for feline leukemia virus infection.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199, 10, 1991: 1389-1391.
- 44-JACQUEMIN, P-C et al. «Antibody response in cats to Feline Leukemia Virus reverse transcriptase under natural conditions of exposure to the virus.» *Virology*, 91, 1978: 472-476.
- 45-JAMESON, P. & ESSEX, M. «Inhibition of feline leukemia virus replication by human leukocyte interferon.» *Antiviral research*, 3, 1983: 115-118.
- 46-JARRETT, W-F-H et al. «A virus like particle associated with leukemia (lymphosarcoma).» *Nature*, 202, 1964: 506-509.
- 47-JARRETT, W-F-H et al. «Leukemia in the cat. Transmission experiments with leukemia (lymphosarcoma).» *Nature*, 202, 1964: 566-567.
- 48-JARRETT, O. «Actualités en vaccination contre la leucose féline.» *CNVSPA/FECAVA*. Paris, 1994. 17-18.

- 49-JARRET, O. «Detection of FeLV antigen.» *The Veterinary Record*, 137, 1995: 127.
- 50-KERR, M-G, SMITH, K-J-D. «Detection of FeLV antigen by indirect immunofluorescence in ELISA/CITE negative cats.» *The Veterinary Record*, 136, 1995: 516-518.
- 51-KONTOS, Vasileios. «Feline Anemia Caused by Infectious Agents.» *WSAVA*. Grenade, 2002.
- 52-LAPPIN, M-R. «Clinical Utility of Molecular Diagnostic Assays in Cats.» *ACVP/ASVCP*. Savannah, USA, 2007.
- 53-LEVY J., et al. «2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines.» *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2008: 300-316.
- 54-LEVY, J., CRAWFORD, P-C. «Feline leukemia virus.» Dans *Textbook of Veterinary Internal Medicine, 6th edition*, de S-J, FELDMANN, E-C ETTINGER, 653-659. Philadelphia: WB Saunders Compagny, 2000.
- 55-LEVY, Laura. «Advances in understanding molecular determinants.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008: 14-22.
- 56-LOAR, A-S. «Feline leukemia virus. Immunization and prevention.» *Veterinary clinics of North America: small animal practice*, 23(1), 1993: 193-211.
- 57-MACCHI, S. «Contribution à l'étude du diagnostic et du dépistage de l'infection par les rétrovirus félines: comparaison de 3 techniques rapides.» Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes, 1997.
- 58-MACY, D-W. «Newer information about FeLV.» *Feline Practice*, 24, 2, 1996: 34.
- 59-MATHES, L-E, OLSEN, R-G. «Immunology of feline leukemia virus disease.» Dans *Feline Leukemia*, 77-88. Florida: CRC Press, 1981.
- 60-MATHEWS, Ref. «Classification et nomenclature des virus, 3e rapport du comité international de taxinomie des virus.» De Masson, 146-152. Les presses de l'université Laval, Québec, 1980.

- 61-MIAZAWA, T. & JARRETT, O. «Feline leukemia virus proviral DNA detected by polymerase chain reaction in antigenaemic but non-viraemic ("discordant") cats.» *Archives of virology*, 142, 1997: 323-332.
- 62-MORAILLON, A. «Infection du chat par le virus leucémogène félin.» *le Point Vétérinaire*, 18 (101), 1986: 575-586.
- 63-MORRISON, W-B. «Mediation on lymphoma in dogs and cats.» *NAVC*. Orlando, Florida, 2005. 657-658.
- 64-MULLINS, J-L, HOOVER, E-A. «Molecular aspects of feline leukemia virus pathogenesis.» *Retrovirus biology and human disease*, 1989: 87-116.
- 65-PACITTI A.M., et al. «Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat.» *Veterinary Record* 118, 1986: 381-384.
- 66-PELLERIN, J-L. «Dépistage immuno-enzymatique de l'infection par le FeLV, attention aux faux positifs!» *le Point Vétérinaire*, 22, 133, 1991: 751-755.
- 67-PHIPPS A.J, et al. «Inhibition of Feline Leukemia Virus Subgroup A Infection by Coinoculation with Subgroup B.» *Virology*, 2000: 40-47.
- 68-PINCHES Mark DG, et al. «Diagnosis of feline leukaemia virus infection by semi-quantitative real-time polymerase chain reaction.» *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2007: 8-13.
- 69-POULET H., et al. «Efficacité d'un vaccin à vecteur canarypox contre la leucémie féline.» *Veterinary Record*, 2 août 2003: 141-145.
- 70-ROJKO J.L., HOOVER E.A., et al. «Influence of adrenal corticosteroids on susceptibility of cats to feline leukaemia virus infection.» *Cancer Res.* 39, 1979: 3789-3791.
- 71-ROJKO J.L., HOOVER E.A., et al. «Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection.» *J. Natl. Cancer Inst.* 63, 1979: 759-768.
- 72-ROJKO J.L., HOOVER E.A., et al. «Reactivation of latent Feline Leukaemia Virus infection.» *Nature* 298, 1982: 385-388.

- 73-ROJKO J.L., KOCIBA G.J. «Pathogenesis of infection by the Feline Leukaemia Virus.» *Journal of the American Veterinary Medical Association* 199, 1991: 1305-1310.
- 74-ROJKO J.L., OLSEN R.G. «The immunobiology of the feline leukaemia virus.» *Veterinary Immunology and Immunopathology* 6, 1984: 107-165.
- 75-SABOURDY, Frédérique. *Diagnostic par PCR des rétroviroses félines*. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 2001.
- 76-SYKES, J. «Infectious causes of anemia in cats.» *Veterinary Focus*, 19, 2, 2009: 31-40.
- 77-SYNBIOTICS Europe. *Présentation WITNESS FeLV-FIV*. 2 r Alexander Fleming 69367 LYON Cedex 07, <http://www.synbiotics.fr>, novembre 2009.
- 78-TANDON R., et al. «Quantification of endogenous and exogenous feline leukemia virus sequences by real-time PCR assays.»
- 79-THIRY, Etienne. *Virologie clinique du chien et du chat*. Editions du Point Vétérinaire, 2002.
- 80-TOMPKINS, M-B et al. «Early events in the immunopathogenesis of feline retrovirus infection.» *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(10), 1991: 1311-1315.
- 81-TORRES A.N., et al. «Development and application of a quantitative real-time PCR assay to detect feline leukemia virus RNA.» *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008: 81-89.
- 82-VOGE Gil «<http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/principe/anim/presentation.htm>. » www.ens-lyon.fr. 2001. (accès le 15 novembre, 2009).
- 83-YGONAAR. «http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:PCR_basic_principe1.jpg.» [wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org). Mars 2006. (accès le 15 novembre, 2009).

Aline PFISTER

La démarche diagnostique de l'infection par le FeLV : synthèse et conseils aux praticiens

Thèse Vétérinaire : Lyon , le 21 mai 2010

RESUME : L'infection par le FeLV est classiquement considérée comme la maladie infectieuse du chat la plus préoccupante et complexe, dont le diagnostic est rendu délicat par la variabilité des scénarios d'infection et des symptômes. Il existe un grand nombre de tests diagnostiques, mais seule une faible partie possède des caractéristiques intrinsèques et extrinsèques les rendant intéressants et utilisables pour le diagnostic du FeLV en clientèle.

Ainsi, la démarche diagnostique doit être extrêmement rigoureuse et s'attacher tout d'abord à l'anamnèse, aux commémoratifs et à l'examen clinique de l'animal, afin d'estimer la prévalence de l'infection. Ceci permettra d'interpréter plus aisément le test rapide de recherche de l'antigène p27, notamment en cas de résultat positif.

Dans de nombreux cas, une confirmation est nécessaire afin de pouvoir préciser le scénario d'infection et poser un diagnostic et un pronostic. Cette confirmation passe principalement par la PCR en temps réel, qui est une technique d'avenir dans le domaine du diagnostic. Enfin, une fois le diagnostic établi, il appartiendra au praticien de dicter la marche à suivre à son client, et ce à plus ou moins long terme, afin de gérer l'affection à l'échelle de l'animal, mais également à l'échelle de la population féline.

MOTS CLES :

- FeLV
- rétrovirus
- leucémie
- chat
- diagnostic

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur VANHEMS Philippe
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur CADORE Jean-Luc
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur CHABANNE Luc
Membre invité :	Docteur BERGAMO Pierre

DATE DE SOUTENANCE :

21 Mai 2010

ADRESSE DE L'AUTEUR :

1, rue des Eglantines
67490 DETTWILLER