

Année 2009



**LES CORONAVIROSES DES CARNIVORES
DOMESTIQUES**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

Marion, Julie RIGODY

Née le 17 mars 1983 à Vitry-sur-Seine (Val-de-Marne)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : Mme LE PODER Sophie

Maître de conférences à l'ENVA

Assesseur : M. BOSSE Philippe

Professeur à l'ENVA

LES CORONAVIROSES DES CARNIVORES DOMESTIQUES

NOM et Prénom : RIGODY Marion, Julie

RESUME :

Les coronaviroses sont des affections courantes chez les carnivores domestiques, en particulier dans les élevages où elles circulent facilement. Généralement asymptomatiques, elles passent souvent inaperçues, aussi bien chez le chien que chez le chat. Cependant, ces viroses peuvent aussi avoir des conséquences importantes et induire de graves troubles. Suite à l'infection par un coronavirus félin, certains chats développent la péritonite infectieuse féline, maladie fatale dont la physiopathogénie est encore mal comprise. Malgré les nombreuses études menées, le diagnostic reste difficile à établir et les moyens de lutte limités. Cette maladie est donc préoccupante, en particulier en collectivité, où elle peut provoquer d'importants préjudices.

Chez le chien, en raison de leur caractère bénin, les coronaviroses ont été moins étudiées et sont relativement mal connues. Ces dix dernières années, la recherche a connu un regain d'intérêt pour ces affections avec la découverte de souches pathogène mortelles et d'un coronavirus canin respiratoire.

MOTS CLES : MALADIE VIRALE, CORONAVIROSE, CORONAVIRUS CANIN SYSTEMIQUE, PERITONITE INFECTIEUSE FELINE, PHYSIOPATHOLOGIE, CARNIVORE, CHIEN, CHAT.

JURY :

Président : Pr.

Directeur : Dr. Sophie Le Poder

Assesseur : Pr. Philippe Bossé

Adresse de l'auteur :

Melle Rigody

1 rue Denfert-Rochereau

94000 Creteil

CORONAVIRUS INFECTIONS OF DOMESTIC CARNIVORES

SURNAME : RIGODY

Given name : Marion, Julie

SUMMARY :

Coronavirus infections occur currently in domestic carnivores. They are easily spread especially in breeding centres. At first sight they are asymptomatic: they often pass unnoticed both in dogs and in cats. Yet, these viral infections can also have major consequences and lead to serious disorders. After the infection by a feline coronavirus, some cats develop the feline infectious peritonitis: a fatal disease whose physiopathology is still misunderstood. In spite of the numerous studies, it is still difficult to diagnose, not to mention treating it. This disease is therefore worrying, particularly in catteries where it can lead to important damages. Coronavirus infections in dogs have been less studied and are relatively not well known, due to their benign character. These last ten years, the research knew a renewal of interest for these affections with the discovery of mortal pathogenic strains and to a respiratory canine coronavirus.

KEYWORDS : VIRAL DISEASE, CORONAVIRUS INFETION, PANTROPIC CANINE CORONAVIRUS, FELINE INFECTIOUS PERITONITIS, PHYSIOPATHOLOGY, CARNIVORE, DOG, CAT.

JURY :

President : Pr.

Director : Dr. Sophie Le Poder

Assessor : Pr. Philippe Bossé

Author's address :

Miss Rigody

1 rue Denfert-Rochereau

94000 Créteil

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard,

LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques,

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

<p>- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henry, Maître de conférences*</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE , MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur M. FREYBURGER Ludovic, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme STORCK-PILOT Fanny, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : ETHOLOGIE M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p> <p>- DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Professeur certifié</p>	<p>- UNITE D'HISTOLOGIE , ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. CRESPEAU François, Professeur M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES M. MOUTHON Gilbert, Professeur</p> <p>- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences*</p> <p>- UNITE DE BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences* M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE M. PHILIPS, Professeur certifié</p>
--	---

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Maître de conférences

<p>- UNITE DE MEDECINE M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences* Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Professeur (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences* M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme DEGUILLAUME Laure, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)</p> <p>- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS Mme Françoise ROUX, Maître de conférences contractuel</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérange, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. JARDEL Nicolas, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier</p> <p>- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences Mme HALOS Lénaïg, Maître de conférences M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier</p> <p>- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel</p> <p>- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur</p>
--	--

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences

<p>- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences</p> <p>- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : BIOSSTATISTIQUES M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Maître de conférences*</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP) M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences*</p>
---	--

* Responsable de l'Unité

REMERCIEMENTS

A Monsieur

Professeur de la faculté de médecine de Créteil

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse

Hommage respectueux

A Madame Sophie Le Poder

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour sa disponibilité, son aide et pour m'avoir fait l'honneur d'être ma directrice de thèse

Sincères remerciements

A Monsieur Philippe Bossé

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour ses corrections et pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse

Sincères remerciements

A tous les Professeurs, maîtres de conférence, chargés de consultation, résidents, assistants, internes et vétérinaires praticiens qui ont participé à ma formation et m'ont donné le goût du métier de vétérinaire.

A toutes les personnes qui m'ont soutenue tout au long de mes études et pour la rédaction de cette thèse :

A mes parents, une phrase ne résumera jamais combien vous comptez pour moi et tout ce que je vous dois. Merci pour absolument tout. Je vous aime.

A mon frère, pour être présent dans mes meilleurs souvenirs d'enfance et avoir toujours pris un soin particulier de sa petite sœur (à part quelques bagarres !). J'ai toujours du mal à exprimer ce que je ressens mais tu sais que tu as toujours été mon idole.
Je te souhaite plein de bonheur avec ta petite Léa et avec Elo. Je vous aime aussi !

A mon Vivien, pour m'avoir prêté ton bureau et ton ordi pour la rédaction de cette thèse ! Surtout, pour tes attentions, ta gentillesse et pour le bonheur que tu m'apportes.
Merci d'être si « positivement spécial », mon homme à moi.

A Guilherme, Martin, Jérôme et Marie, pour les moments partagés dans notre beau lycée cristolien et ceux partagés depuis : les discussions sans queue ni tête derrière un bon verre et les vacances ressourçantes (parfois un peu froides...). Malgré le temps qui passe et nos vies qui évoluent, les instants passés avec vous restent un pur plaisir.
Une pensée toute particulière à Guilherme pour m'avoir soutenue pendant mes deux années acharnées de classe préparatoire. Tu sais que tu n'es pas n'importe qui à mes yeux et que tu pourras toujours compter sur moi.

A Aurélie, Emilie, Elodie, pour nos soirées moovage de body ; pour les soirées loose aussi, parce que ça fait quand même des souvenirs. Les consultations et les TD auraient été beaucoup moins drôles sans vous. J'espère que l'on restera des amies de la vie !

A Julie et Marie, pour tellement de bons moments passés avec vous, en particulier les soirées, week-end et autres vacances entre copines.
Julie, merci pour ton soutien dans l'adversité ! Je pense que dans quelques années les périodes difficiles seront devenues des bons souvenirs et il restera toujours les vrais bons moments passés ensemble.
Marie, je te souhaite plein de bonheur dans ta nouvelle vie de femme accomplie !

Aux autres membres du groupe 4, Zym, Cam, Alex, Valou, Pp et Ana, pour mes deux meilleures années passées dans cette école. A ceux qui ont participé à ma vie d'étudiante ; une pensée particulière pour Raphaël (mon ancien), Laurie (ma fille de clinique), Erwan (mon co-faune sauvage), Laëtitia (ma poulotte) et Laurence (ma coloc de la 407).

A Auda, mon boudin noir, parce que si on ne peut pas citer son chien dans une thèse vétérinaire, ce n'est pas drôle. A l'association Handichien pour m'avoir permis de vivre une expérience formidable.

A tous ceux que je n'ai pas cités mais qui comptent pour moi.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	5
LISTE DES ABREVIATIONS	7
INTRODUCTION	9
PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LES CORONAVIRUS	11
I. PRESENTATION DES PARTICULES VIRALES	13
A) <i>Protéines structurales</i>	13
1) La protéine M ou E1 (protéine de membrane)	14
2) La protéine sM ou E (petite protéine d’enveloppe).....	14
3) La protéine S (spike) ou E2.....	14
4) La protéine N (protéine de la nucléocapside).....	14
5) La protéine HE (hémagglutinine-estérase).....	15
B) <i>Structure génomique</i>	15
II. CLASSIFICATION	16
III. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET ANTIGENIQUES	19
A) <i>Propriétés physico-chimiques</i>	19
B) <i>Propriétés antigéniques</i>	20
IV. MULTIPLICATION VIRALE	20
V. EVOLUTION GENETIQUE DES CORONAVIRUS ET CONSEQUENCES	22
A) <i>Franchissement de la barrière d’espèce</i>	23
1) Déterminisme de la spécificité d’hôte des Coronavirus	23
2) Cas de transmissions interspécifiques observées	24
B) <i>Changement de tropisme</i>	26
DEUXIEME PARTIE : LES CORONAVIROSES DU CHAT	27
I. CLASSIFICATION	29
A) <i>Les deux biotypes</i>	29
B) <i>Les deux sérotypes</i>	31
C) <i>Relation biotype-sérotype</i>	31
II. EPIDEMIOLOGIE	33
A) <i>Epidémiologie descriptive</i>	33
1) Répartition	33
2) Prévalence.....	33
3) Facteurs de risque	34
B) <i>Epidémiologie analytique</i>	35
1) Sources d’infection	35
2) Mode de transmission	36
III. PHYSIOPATHOLOGIE DES CORONAVIROSES FELINES.....	36
A) <i>Infection asymptomatique ou subclinique</i>	36
B) <i>Evolution vers une PIF clinique</i>	37
C) <i>Mécanismes immunitaires mis en jeu</i>	38
1) Rôle des cytokines et médiateurs de l’inflammation.....	38
2) Modalités de formation des lésions	41
D) <i>Déterminisme du pouvoir pathogène</i>	44
1) La souche virale	44
2) Statut immunitaire.....	44
3) Déterminants génétiques	46
4) Facteurs de risque extrinsèques.....	47
IV. SYMPTOMES	48
A) <i>Prémices de l’infection</i>	48
B) <i>Evolution vers une PIF clinique</i>	48
1) Forme humide	48
2) Forme sèche	49
3) Evolution vers une forme sèche ou humide	51
V. LESIONS.....	51

A)	<i>Forme humide</i>	51
B)	<i>Forme sèche</i>	52
VI.	DIAGNOSTIC	52
A)	<i>Diagnostic clinique</i>	53
B)	<i>Diagnostic différentiel</i>	53
C)	<i>Examens complémentaires</i>	55
1)	Imagerie médicale	55
2)	Analyse du liquide d'épanchement	55
3)	Analyses sanguines	59
4)	Analyse du LCR.....	62
D)	<i>Diagnostic virologique</i>	63
1)	Recherche d'anticorps anti-Coronavirus	63
2)	RT-PCR	66
3)	Recherche des antigènes par immunofluorescence	67
E)	<i>Histologie</i>	68
F)	<i>Démarche clinique pour le diagnostic de la PIF</i>	69
1)	Comparaison des différents tests disponibles.....	69
2)	Conduite à tenir.....	71
VII.	TRAITEMENT.....	73
A)	<i>Traitement des chats atteints par le Coronavirus entéritique bénin</i>	73
B)	<i>Traitement des chats atteints par le virus de la PIF</i>	73
1)	Traitements symptomatiques	73
2)	Les immunosuppresseurs	74
3)	Traitements antiviraux	74
VIII.	PROPHYLAXIE.....	76
A)	<i>Vaccination</i>	76
1)	Les essais de séroimmunisation	76
2)	Les échecs vaccinaux	76
3)	Le vaccin actuel	77
4)	Les perspectives	78
B)	<i>Prophylaxie sanitaire</i>	79
1)	Statut de l'animal et de l'élevage	79
2)	Mesures préventives.....	79
IX.	PRONOSTIC	82
X.	ASPECT LEGAL.....	82
XI.	CONCLUSION	83
TROISIEME PARTIE : LES CORONAVIROSES DU CHIEN.....		85
I.	LE CORONAVIRUS CANIN CLASSIQUE A TROPISME ENTERITIQUE	87
A)	<i>Classification</i>	87
B)	<i>Epidémiologie</i>	89
1)	Descriptive.....	89
2)	Analytique.....	90
C)	<i>Pathogénie</i>	90
1)	Infection virale	90
2)	Immunogénicité	91
3)	Déterminisme du pouvoir pathogène	91
D)	<i>Symptômes</i>	92
E)	<i>Lésions</i>	93
F)	<i>Diagnostic</i>	93
1)	Diagnostic clinique	93
2)	Diagnostic différentiel.....	93
3)	Diagnostic de laboratoire	94
G)	<i>Traitement</i>	96
H)	<i>Prophylaxie</i>	97
1)	Sanitaire	97
2)	Vaccination	97
I)	<i>Pronostic</i>	98
II.	EVOLUTIONS DU CORONAVIRUS ENTERITIQUE VERS DE NOUVEAUX VARIANTS.....	98
A)	<i>Mise en évidence de souches virulentes, responsables d'entérites fatales</i>	98
B)	<i>Possibilité d'infections systémiques par la souche CB/05</i>	99
C)	<i>Mise en évidence de souches TGEV-like</i>	104
III.	LE CORONAVIRUS CANIN A TROPISME RESPIRATOIRE.....	104

A) <i>Mise en évidence et classification</i>	104
B) <i>Epidémiologie</i>	105
1) Descriptive.....	105
2) Analytique.....	107
C) <i>Pathogénie</i>	107
1) Le complexe « toux de chenil »	107
2) L'infection virale	107
3) L'immunogénicité.....	108
D) <i>Signes cliniques</i>	108
E) <i>Diagnostic</i>	108
1) La RT-PCR	109
2) L'isolation en culture cellulaire	109
3) L'immunohistochimie.....	109
4) La sérologie	109
F) <i>Traitement</i>	110
G) <i>Prévention</i>	110
1) Prophylaxie hygiénique.....	110
2) Vaccination	110
IV. CONCLUSION	111
CONCLUSION	113
BIBLIOGRAPHIE	115

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

	Page
Figure 1 : Aspect des Coronavirus en microscopie électronique.....	13
Figure 2 : Structure protéique des coronavirus.....	15
Figure 3 : Organisation générale du génome des Coronavirus, basée sur l'exemple du génome du Coronavirus félin.....	16
Figure 4 : Spectre d'hôte des différentes espèces de Coronavirus.....	19
Figure 5 : Cycle viral des Coronavirus.....	22
Figure 6 : Communautés génomiques entre le CCoV et les 2 sérotypes de FCoV, montrant une probable recombinaison entre le CCoV et le FCoV I.....	26
Figure 7 : Pathogénicité des différentes souches de FCoV.....	30
Figure 8 : Arbre phylogénétique issu de l'analyse de la séquence S des sérotypes I et II.....	32
Figure 9 : Différentes évolutions possibles de l'infection par le FCoV.....	38
Figure 10 : Relation entre l'évolution des signes cliniques, la température corporelle, le niveau du complément et les concentrations en anticorps et complexes immuns dans le plasma.....	39
Figure 11 : Physiopathogénie de la PIF.....	43
Figure 12 : Rôle de l'immunité dans l'évolution de la PIF.....	45
Figure 13 : Chat atteint par une forme humide de PIF, provoquant une distension importante de l'abdomen.....	49
Figure 14 : Symptômes oculaires observables lors de PIF. A gauche, chat présentant un saignement intraoculaire. A droite, fond d'œil montrant un engorgement des vaisseaux rétinien.....	50
Figure 15 : Aspect macroscopique du liquide d'épanchement de PIF.....	56
Figure 16 : Aspect cytologique typique d'un épanchement de PIF.....	57
Figure 17 : Aspect d'un test de Rivalta positif.....	58
Figure 18 : Profil électrophorétique compatible avec une atteinte par la PIF.....	60
Figure 19 : Détection des anticorps sériques anti-coronavirus félin par immunofluorescence indirecte sur des cellules de porc infectées par le TGEV.....	64
Figure 20 : Aspect du test Immunocomb®.....	65
Figure 21 : Recherche d'antigène par immunofluorescence sur les macrophages.....	68
Figure 22 : Démarche à suivre pour le diagnostic de la PIF.....	72
Figure 23 : Scénario hypothétique de l'évolution des coronavirus du groupe 1 à partir d'un ancêtre commun.....	88
Figure 24 : Les différents micro-organismes intervenant dans le complexe de l'entérite canine.....	92
Figure 25 : Cavité thoracique et foie d'un des chiots atteints par la souche CB/05. Présence d'une coalescence, d'aires de fibroses sur les différents lobes pulmonaires et de zones d'infarcissement du foie.....	100
Figure 26 : Lésions pulmonaires observées sur l'un des chiots atteints par la souche CB/05 à l'histologie.....	101
Figure 27 : Analyse phylogénétique de la souche CB/05, basée sur l'analyse de la protéine S (a) et de la protéine M (c).....	103
Figure 28 : Analyse phylogénétique des Coronavirus canins respiratoires, basée sur la comparaison de la région située entre les gènes codant pour la protéine S et E des différents Coronavirus du groupe 2.....	105
Tableau 1 : Classification des principaux Coronavirus.....	18
Tableau 2 : Propriétés antigéniques des protéines structurales.....	20
Tableau 3 : Récepteurs à la protéine S identifiés.....	21
Tableau 4 : Les différents domaines expliquant le rôle de récepteur de l'APN féline pour les Coronavirus du groupe 1.....	24
Tableau 5 : Comparaison des anticorps anti-sérotypes I et anti-sérototype II dans différentes catégories de chats (par immunofluorescence).....	32
Tableau 6 : Rôle des différents médiateurs de l'inflammation dans la physiopathologie de la PIF.....	40
Tableau 7 : Symptômes retrouvés chez 36 chats atteints de PIF (formes sèche et humides confondues).....	53
Tableau 8 : Diagnostic différentiel de la PIF.....	54
Tableau 9 : Etiologies des exsudats abdominaux et thoraciques, autres que les exsudats de PIF.....	58
Tableau 10 : Comparaison des différents tests diagnostics disponibles sur liquide d'épanchement.....	70
Tableau 11 : Comparaison des différents tests diagnostics disponibles sur le sérum.....	70
Tableau 12 : Résultats des études concernant l'élaboration d'un vaccin.....	77
Tableau 13 : Etiologie des diarrhées aiguës chez le chien.....	94

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviations des virus :

Bat-CoV : Bat Coronavirus
BCoV : Bovine Coronavirus
CCoV : Canine Coronavirus
CPV : Canine Parvovirus
CRCoV : Canine Respiratory Coronavirus
DCoV : Duck Coronavirus
FCoV : Feline Coronavirus
FECV : Feline Enteritic Coronavirus
FeLV : Feline Leukemia Virus
FIPV : Feline Infectious Peritonitis Virus
FIV : Feline Immunodeficiency Virus
GCoV : Goose Coronavirus
HCoV : Human Coronavirus
HIV : Human Immunodeficiency Virus
IBV : Infectious Bronchitis Virus
MHV : Mouse Hepatitis Virus
PCoV : Porcine Coronavirus
PEDV : Porcine Epidemic Diarrhea Virus
PHEV : Porcine hemagglutinary encephalitis virus
PIF : Péritonite infectieuse féline
PRCV : Porcine Respiratory Coronavirus
RCV : Rat Coronavirus
RbCoV : Rabbit Coronavirus
SARS-CoV : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SDAV : Sialodacryoadenitis virus
SL-CoV : SARS-like Coronavirus
TCoV : Turkey Coronavirus
TGEV : Transmissible Gastroenteritis Virus

Autres abréviations :

APN : Aminopeptidase N
ARN : Acide Ribonucléique
CIVD : Coagulation Intravasculaire Disséminée
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IL : Interleukine
IFN : Interféron
LCR : Liquide Céphalorachidien
PCR : Polymerase Chain Reaction
PG : Prostaglandine
RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR
TNF : Tumor Necrosis Factor

INTRODUCTION

Les Coronavirus sont responsables d'affections pouvant toucher de nombreuses espèces. Ainsi, des virus de cette famille ont été identifiés chez les porcins, les bovins, les rongeurs, plusieurs espèces aviaires, les carnivores et l'homme. Leur génome, constitué d'une longue molécule d'ARN évolue soit par mutation, soit par recombinaison entre deux Coronavirus. Ce phénomène est à l'origine de nouveaux virus pouvant franchir la barrière d'espèce, changer de tropisme ou de virulence.

L'épidémie de SARS est un exemple de la capacité évolutive des Coronavirus et a suscité un regain d'intérêt pour cette famille, comme agents potentiels de zoonoses.

Chez les carnivores domestiques, on retrouve des Coronavirus d'intérêt. Les Coronavirus félins, décrits depuis les années 60, sont très répandus, en particulier en collectivité. Ils peuvent être à l'origine d'une affection rare mais fatale, la péritonite infectieuse féline. Les Coronavirus canins, découverts dans les années 70, sont moins connus, mais tout aussi répandus. Des études récentes ont montré une diversité des Coronavirus canins et ont permis de mieux appréhender les conséquences cliniques de l'affection.

Dans une première partie, nous envisagerons les caractéristiques générales de la famille des *Coronaviridae*, en particulier leur structure protéique et génomique, qui permettent de mieux comprendre la pathogénicité et la capacité évolutive de ces virus.

Dans une seconde partie, nous nous intéresserons plus particulièrement aux Coronavirus félins. Nous tenterons d'établir la relation entre les souches entériques bénignes et les souches responsables de la PIF et de décrire au mieux la physiopathogénie de cette affection, encore mal comprise. Enfin, nous établirons les dernières connaissances concernant le diagnostic, le traitement et la prophylaxie.

Dans une troisième partie, nous verrons les caractéristiques virologiques des Coronavirus canins entériques classiques et les conséquences cliniques de l'infection. Puis nous nous intéresserons aux dernières données concernant l'apparition de variants virulents et la découverte récente du Coronavirus canin respiratoire.

Un Coronavirus a été décrit chez le furet. Celui-ci a été fort peu étudié et ne sera pas abordé dans cette étude qui se limitera aux Coronavirus canins et félins.

PREMIERE PARTIE :
GENERALITES SUR LES CORONAVIRUS

I. Présentation des particules virales

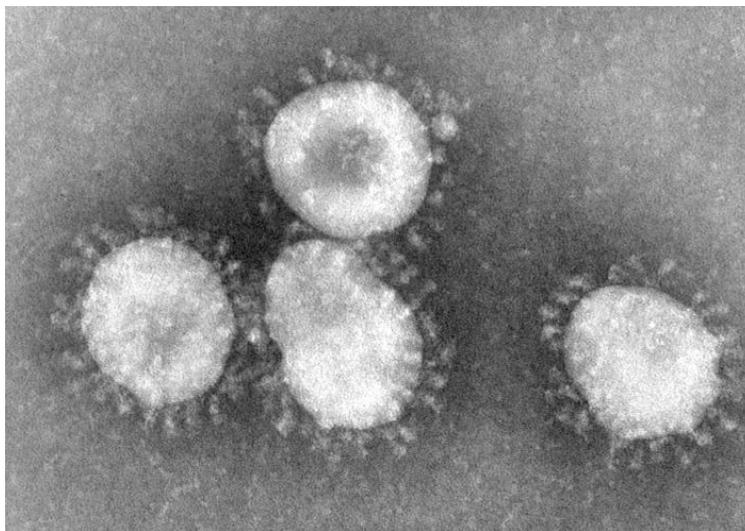
Les Coronavirus sont des virus enveloppés dont le génome est un ARN de polarité positive.

Leur aspect est très polymorphe. Il s'agit de gros virus sphériques dont la taille peut aller de 60 à 220 nm (en moyenne 100 nm).

Leur enveloppe provient de la cellule hôte. Plusieurs protéines d'origine virale y sont enchâssées, formant des projections en forme de massue, appelées péplomères. Le nom de Coronavirus vient de leur aspect en microscopie électronique (Figure 1) : les protéines structurales de l'enveloppe forment une couronne (« corona » en latin) autour de la particule virale (Horzinek et Lutz, 2001).

La nucléocapside, de forme hélicoïdale, est composée de la protéine N, commune à tous les Coronavirus et d'une molécule d'ARN monocaténaire de 27 à 33 kbases. Il s'agit de la plus longue molécule d'ARN viral connue.

Figure 1 : Aspect des Coronavirus en microscopie électronique
(source : site de l'encyclopédie wikipedia)



A) Protéines structurales

Les Coronavirus comportent 4 protéines de structure communes (Gonon, 1998) (Figure 2).

1) La protéine M ou E1 (protéine de membrane)

Il s'agit d'une protéine glycosylée de 25 à 30 kD. Cette protéine, principalement hydrophobe, est enchâssée dans la membrane et seule une faible proportion est exposée à la surface du virion.

Elle permet la maturation des particules virales.

2) La protéine sM ou E (petite protéine d'enveloppe)

Il s'agit d'un polypeptide transmembranaire de 10 kD.

Elle régule l'assemblage et le bourgeonnement des particules virales.

3) La protéine S (spike) ou E2

Cette protéine glycosylée de 180 kD est organisée en trimères de 600 kD. Cette structure donne des saillies en forme de massue de 12 à 24 nm visibles en microscopie électronique, qui sont responsables de la forme de couronne caractéristique des Coronavirus. Elle est composée de 2 sous-unités S1 (partie globulaire) et S2 (partie en forme de tige).

La protéine S est nécessaire à l'attachement de la particule virale sur la cellule réceptrice de l'hôte, par sa sous-unité S1, et à la fusion de l'enveloppe virale à la membrane cellulaire, grâce à sa sous-unité S2. Cette protéine est un déterminant important de la spécificité d'hôte des Coronavirus. Elle est également la cible principale de la réponse immunitaire humorale et cellulaire et induit la synthèse d'anticorps neutralisants. Elle possède une faible activité hémagglutinante et se lie aux acides sialiques.

Une étude réalisée en 2000 (Kuo *et al.*) a permis de confirmer le rôle de la protéine S dans la spécificité d'hôte des Coronavirus. Cette étude utilise des recombinaisons ciblées d'ARN pour créer des chimères de protéine S, comportant l'ectodomaine de la protéine S du Coronavirus félin et le domaine transmembranaire de la protéine S du virus de l'hépatite murine. Cette protéine S chimérique est incorporée dans un virus murin (MHV). Le virus ainsi obtenu, appelé fMHV, a perdu sa capacité d'infecter les cellules murines, mais peut, par contre, infecter les cellules félines.

4) La protéine N (protéine de la nucléocapside)

Cette petite protéine de 50 kD présente une forte affinité pour l'ARN grâce à des résidus fortement basiques. Elle possède un domaine de 70 acides aminés très conservés (tiers N-terminal), deux domaines basiques (dont l'un est riche en sérine) et une région acide à l'extrémité C-terminale.

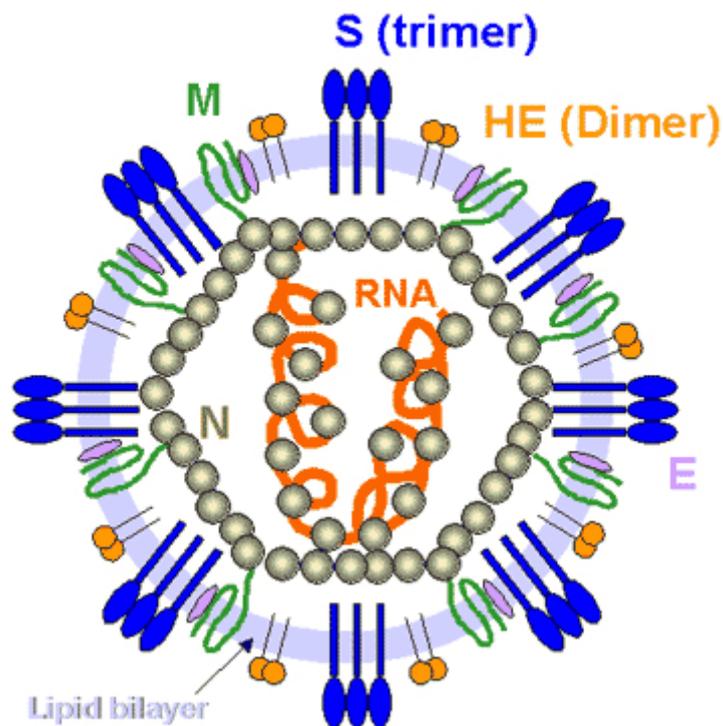
Elle participe à la formation de la nucléocapside et permettrait d'orienter vers une transcription du génome en ARNm ou vers une réplication génomique pour la synthèse de nouveaux virions.

5) La protéine HE (hémagglutinine-estérase)

Cette protéine de 62-65 kD a été identifiée chez les Coronavirus du groupe 2 mais est absente chez les autres. Ce dimère forme une double rangée de petits spicules de 5 nm de hauteur à la surface du virion.

Elle possède une activité hémagglutinante et acétyl-estérase.

Figure 2 : Structure protéique des coronavirus
(source : site de l'université de médecine de Caroline du sud)



B) Structure génomique

Le génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin positif (directement traduit) associé à la protéine de nucléocapside. Cette molécule est linéaire et directement infectante. Il s'agit du plus grand génome à ARN connu (27 à 33 kbases).

L'organisation du génome est assez commune chez toutes les espèces de Coronavirus (Figure 3).

Ce génome comporte des parties non codantes : une région de 200 nucléotides en 5' et une de 400 nucléotides en 3'. La région en 5' inclue la séquence « leader » permettant la traduction.

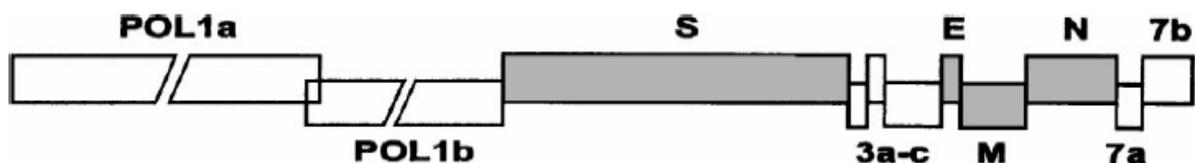
Les deux premiers tiers du génome (environ 20 kb) sont constitués de 2 cadres de lecture ORF1a et 1b chevauchant (Gonon, 1998). Cette partie code pour deux précurseurs protéiques, qui sont clivés en 15 à 16 fragments et forment le complexe de réplication. Cette partie du génome comprend, entre autres le gène Pol, codant pour la polymérase virale (protéine de 700 kD).

Le reste du génome code pour les protéines structurales évoquées plus haut (S, M, sM, N) et pour des protéines non structurales. La fonction de ces dernières n'a pas été déterminée et il a été démontré qu'elles n'étaient pas indispensables à la réplication virale (Haijema *et al.*, 2004).

La polymérase virale ne permet pas un système de correction efficace. Les mutations ponctuelles sont donc fréquentes : environ une erreur pour 10 000 nucléotides à chaque réplication. Le génome des Coronavirus mesurant environ 30 kbases, on peut considérer qu'à chaque réplication, le nouveau virion diffère du précédent sur au moins un site. Ceci explique la variabilité génomique des Coronavirus, renforcé par la possibilité de recombinaisons inter-génomiques. Des délétions génomiques sont également possibles.

La longueur du génome des Coronavirus a longtemps été un obstacle à l'étude de la fonction et de l'expression des différents gènes. Des études récentes utilisant des recombinaisons ciblées d'ARN ont permis de remédier à ce problème (Kuo *et al.*, 2000).

Figure 3 : Organisation générale du génome des Coronavirus, basée sur l'exemple du génome du Coronavirus félin (d'après Rottier, 1999). Les gènes codant pour des protéines structurales ou pour la polymérase sont indiqués par le nom de la protéine. Les gènes codant pour des protéines de fonction inconnue sont désignés par des nombres (3a-c et 7a).



II. Classification

Le groupe des Coronavirus est connu depuis les années 1960. Il a été créé en 1967 et les virus ont été regroupés selon des critères essentiellement morphologiques. Cependant, avec l'émergence du SARS-CoV (identifié en mars 2003), responsable d'une épidémie de syndromes respiratoires aigus sévères, cette famille a, de nouveau, beaucoup été étudiée ces dernières années.

Depuis 1996, les *Coronaviridae* sont classés dans l'ordre taxonomique des Nidovirales. Cet ordre comprend également les *Arteriviridae* et les *Roniviridae* (Horzinek, 2004). La classification est basée sur des similitudes d'organisation génomique, de méthodes de réplication et de transcription. Ils diffèrent par leur morphologie, la structure de leur capsidie et la taille de leur génome (de 13 000 nucléotides pour les Arterivirus à 31 000 pour les Coronavirus).

La famille des *Coronaviridae* comporte deux genres : les Coronavirus et les Torovirus (Virus de Berne du cheval, Virus Breda des bovins et Torovirus du porc).

Les Coronavirus sont eux-mêmes répartis en trois groupes, présentant une proximité antigénique, structurale (domaines antigéniques communs dans les protéines M, S et N) et génétique (gène Pol) (Tableau 1). Il existe également des virus non groupés. Le SARS-CoV a été d'abord placé avec les virus non groupés puis dans le groupe 2 (qui a été scindé en groupe 2a et 2b).

Depuis 2003, 24 nouveaux Coronavirus ont été identifiés : 3 chez l'homme, 10 chez les autres mammifères et 11 chez les oiseaux (Vabret *et al.*, 2008) (Figure 4).

Tableau 1 : Classification des principaux Coronavirus (d'après Gonon, 1998)

Groupe	Virus	Maladie
Groupe 1 (Mammifères)	Gastroentérite transmissible du porc (TGEV)	Gastroentérite
	Coronavirus respiratoire du porc (PRCV)	Maladie respiratoire
	Diarrhée épidémique porcine (PEDV)	Gastroentérite
	Péritonite infectieuse féline (FIPV)	Pneumonie, péritonite, épanchement, ...
	Coronavirus entéritique félin (FECV)	Diarrhée du jeune
	Coronavirus canin (CCoV)	Diarrhée
	Coronavirus humain 229E (HCoV-229E)	Rhume
	Coronavirus humain NL-63	Maladie respiratoire
	Coronavirus du lapin (RbCV)	Cardiomyopathie
	Coronavirus du furet	Entérite, péritonite
Groupe 2 (Mammifères et Oiseaux)	Hépatite murine (MHV)	Hépatite
	Coronavirus bovin (BCoV)	Gastroentérite
	Virus hémagglutinant de l'encéphalomyélite porcine (HEV)	Vomissements, encéphalomyélite
	Maladie de la crête bleue de la dinde (TCV)	Diarrhée
	Coronavirus humain OC43	Rhume
	Coronavirus humain NKV1	Maladie respiratoire
Groupe 3 (Oiseaux)	Bronchite infectieuse aviaire (IBV)	Trachéobronchite, néphrite
Non groupés	Virus du syndrome respiratoire aigu sévère de l'homme (SARS)	Pneumonie

Tous ces virus sont cosmopolites. Des coronavirus ont été identifiés dans toutes les espèces de Mammifères ou d'Oiseaux où ils ont été recherchés (Horzinek, 2004).

Ils sont, par contre, sensibles aux solvants des lipides (éther, chloroforme), aux détergents communs (alcools, ammoniums quaternaires, iodophores et hypochlorite de soude), au formol, aux agents oxydants et à la chaleur (thermolabiles : inactivés en quelques heures à 37°C).

B) Propriétés antigéniques

On retrouve des réactions antigéniques croisées à l'intérieur des groupes. Ainsi, les virus du groupe 1 possèdent des déterminants antigéniques communs situés sur les 3 protéines majeures du virion.

Cette communauté est utilisée en diagnostic sérologique. Les coronavirus félines sont difficiles à cultiver. Les tests sérologiques félines utilisent donc des cellules porcines infectées par le virus porcin, reconnues par les anticorps du sérum félin, s'il y en a.

Les protéines structurales majeures ont des propriétés antigéniques déterminées (Tableau 2).

Tableau 2 : Propriétés antigéniques des protéines structurales (d'après Gonon, 1998)

Protéine	Propriété
S	Anticorps neutralisants Réponse T cytotoxique
N	Sites T-immunodominants
M	Anticorps neutralisants (complément)

IV. Multiplication virale

Le cycle des coronavirus s'effectue en 8 à 10 heures dans le cytoplasme de la cellule infectée.

La multiplication virale s'effectue en plusieurs étapes (Figure 5) :

- La pénétration dans la cellule hôte a lieu par interaction protéine virale-récepteur. Les virus du groupe 1 pénètrent généralement dans la cellule hôte par interaction de leur protéine S avec l'aminopeptidase N cellulaire, il y a fusion avec la membrane plasmique ou endocytose. L'aminopeptidase N est une enzyme protéolytique, située sur la membrane apicale des entérocytes et sur la membrane des monocytes. Les virus des autres groupes interagissent avec des récepteurs, identifiés pour certains d'entre eux (Tableau 3),

Tableau 3 : Récepteurs à la protéine S identifiés (d'après Vabret *et al.*, 2008)

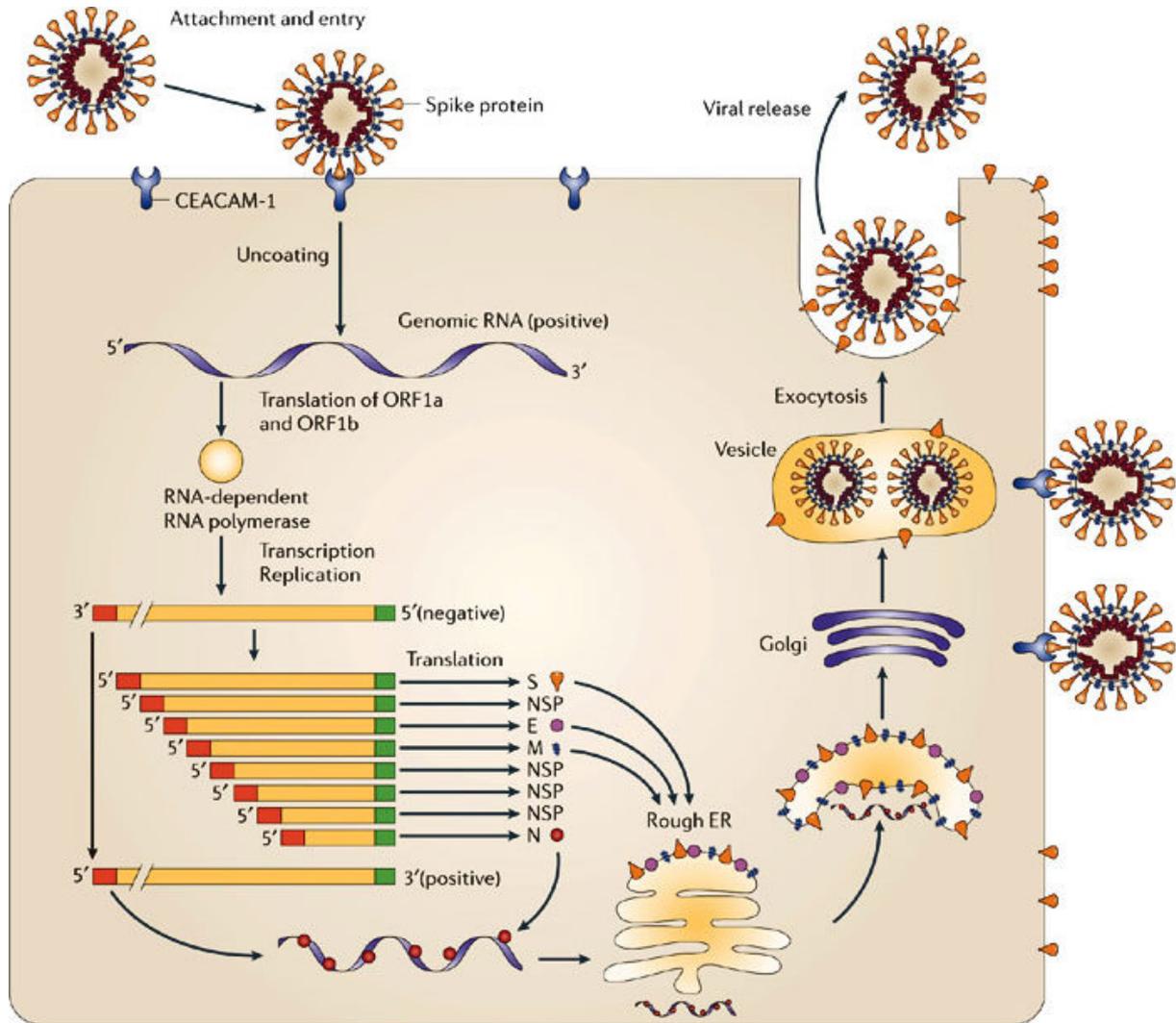
Virus	Récepteur à la protéine S
Hépatite murine (MHV)	Molécule CEACAM1 (carcinoembryonic cell adhesion molecule 1a)
Coronavirus du groupe 1 (HCoV-229E, coronavirus porcins TGEV et PRCV, coronavirus canins et félins type II)	Aminopeptidase N (APN) ou CD13
HCoV-NL63 et SARS-CoV	Molécule ACE2 (human angiotensin-converting enzyme 2)

- La réplication des Coronavirus dans les cellules eucaryotes est, ensuite, entièrement intracytoplasmique,
- Après entrée dans la cellule hôte, l'ARN viral est décapsidé et se comporte comme un ARNm. Le gène pol est traduit directement, ce qui permet d'obtenir une polymérase ARN-dépendante. Celle-ci élabore un brin d'ARN négatif, qui sert de matrice pour les ARNm subgénomique et l'ARN génomique des futurs virions. La réplication aboutit à la formation d'ARN subgénomiques, de taille décroissante, ayant tous la même extrémité 3',
- La traduction de la partie 5' des ARN subgénomiques permet l'élaboration des protéines S, M, N, sM et de protéines non structurales. La protéine M est glycosylée dans l'appareil de Golgi et la protéine S dans le REG. Les ARN génomiques sont encapsidés,
- L'assemblage de ces différents éléments et la maturation des virions ont lieu dans le REG et l'appareil de Golgi,
- Les protéines structurales et la nucléocapside sont ensuite transportées de l'appareil de Golgi vers la membrane cellulaire dans des vésicules et subissent une exocytose,
- Les nouveaux virions (enveloppés par la membrane cellulaire) sont libérés et peuvent conduire à la mort cellulaire ou à la formation de syncytia.

Pendant toute la durée du cycle viral, il n'y a pas d'inhibition des synthèses cellulaires. Il existe donc des infections chroniques avec production de nouveaux virions.

Le processus d'assemblage des particules virales n'est pas encore totalement élucidé. Il a, cependant, été observé que des particules Coronavirus-like exprimant M, E et S pouvaient être assemblées et libérées par les cellules, en l'absence d'infection virale. Ceci laisse supposer que l'assemblage des virions nécessite l'intervention de ces trois molécules, mais ne requiert pas la présence de la nucléocapside, et donc de la protéine N (Rottier, 1999).

Figure 5 : Cycle viral des Coronavirus, d'après l'exemple du virus de l'hépatite murine (Source : site du périodique Nature)



V. Evolution génétique des coronavirus et conséquences

Le mécanisme de réplication, qui conduit à une évolution du génome des Coronavirus, explique le dynamisme de la famille. Les mutations ponctuelles sont très fréquentes. Les recombinaisons inter-génomiques (mises en évidence pour le virus de l'hépatite murine), des recombinaisons entre 2 virus différents et des délétions sont également possibles. Au sein de chaque espèce virale, la population est donc très hétérogène.

Il s'agit en quelque sorte d'une stratégie permettant de faire face aux variations environnementales (Vabret *et al.*, 2008).

Tous ces mécanismes expliquent qu'il existe des modifications dans la spécificité d'espèce, le tropisme et la pathogénicité des différents virus.

A) Franchissement de la barrière d'espèce

1) Déterminisme de la spécificité d'hôte des Coronavirus

Les Coronavirus sont en général assez spécifiques d'espèce puisque la protéine S interagit directement avec un récepteur cellulaire. Cependant, l'apparente plasticité de la protéine S, permettrait aux Coronavirus de se lier à différents récepteurs, en particulier à des récepteurs hétérologues dans différentes espèces. Ce phénomène leur permettrait d'émerger chez de nouveaux hôtes.

La plupart des Coronavirus du groupe 1 utilisent l'aminopeptidase N de leur hôte naturel comme récepteur cellulaire. Celle-ci interagit avec la protéine S virale pour permettre l'entrée dans la cellule. L'APN est une protéase zinc-dépendante, qui clive l'acide aminé N-terminal de certains peptides.

Une étude a montré que les Coronavirus porcine (TGEV), canin (CCoV) et humain (HCoV-229E) utilisaient comme récepteurs l'APN de leur hôte respectif mais étaient également capables d'utiliser l'aminopeptidase féline comme récepteur (Tresnan *et al.*, 1996). Ceci laisse supposer une possibilité d'infection du chat par un de ces virus. Les chats peuvent être infectés expérimentalement par ces 3 virus mais ne présentent aucun symptôme. Une recombinaison entre ces différents virus serait possible chez le chat, à la faveur d'une infection simultanée.

Une étude plus poussée des différents domaines de l'aminopeptidase N (Tusell *et al.*, 2007) a permis de préciser les régions déterminant la spécificité d'hôte. Différents domaines d'intérêt avaient déjà été mis en évidence en utilisant des APN chimères humain-porcine, humain-félin et porcine-félin. L'équipe de Tusell a complété les connaissances en utilisant des chimères APN murine et APN féline. Des domaines de l'APN féline ont été intégrés à l'APN murine pour déterminer les régions permettant l'entrée du virus dans la cellule. Le tableau 4 résume les différents domaines expliquant le rôle de récepteur de l'APN féline pour les Coronavirus du groupe 1.

Tableau 4 : Les différents domaines expliquant le rôle de récepteur de l'APN féline pour les Coronavirus du groupe 1 (d'après Tusell *et al.*, 2007). T = thréonine, R = arginine, N = asparagine, V = valine. R1 correspond à la région située entre les acides aminés 732 à 746 et R2 à celle entre les acides aminés 764 à 788.

Résidus ou région de l'APN féline permettant le rôle de récepteur	Virus concerné	Conséquences sur la spécificité d'espèce du virus
288-290	HCoV-229E	Entrée du virus bloquée par la présence d'une N-glycosylation sur les APN murines et porcines (absente sur les APN félines et humaines)
T742	TGEV, FCoV, CCoV	Substitution de ce résidu sur les APN murines (V) et humaines (R) empêchant l'utilisation des APN murines et humaines par TGEV, CCoV et FCoV
R741	TGEV	Substitution de ce résidu sur APN humaine (T) empêche l'infection par TGEV
R1 (732-746)	TGEV	Absent sur APN murine donc entrée impossible
R1 (732-746) et R2 (764-788)	FCoV, CCoV	Absents sur APN murine donc entrée impossible
N740	CCoV	Entrée nécessite la présence de ce résidu, conservé dans toutes les APN

Malgré l'importance de l'interface protéine S/APN, peu de résidus sont vraiment déterminants dans la spécificité d'hôte. Ceci explique que la mutation d'un de ces résidus de la protéine S puisse facilement conduire à un franchissement de la barrière d'espèce.

2) Cas de transmissions interspécifiques observées

a) Cas du Coronavirus humain OC43

Ainsi, il a été démontré que le Coronavirus humain OC43 provient d'une adaptation du Coronavirus bovin. En effet, le séquençage complet du génome du HCoV-OC43 en 2005 (Vijgen *et al.*) a montré 90% de nucléotides communs avec le Coronavirus bovin. Il semblerait donc que l'émergence du Coronavirus OC43 chez l'homme serait secondaire à une transmission dans le sens bovins-humains à la fin du XIXe siècle.

b) Cas du SARS-CoV

De même, une origine animale du virus du SARS est fortement supposée. En effet, l'analyse des séquences très conservées, comme l'ORF 1b, laisserait supposer que le virus du SARS partagerait un ancêtre commun avec les coronavirus du groupe 2. L'hypothèse retenue est

l'existence d'un réservoir naturel de SL-CoV chez les chauves-souris, qui serait à l'origine de la contamination de plusieurs espèces animales et de l'homme (Li *et al.*, 2006).

c) Cas des coronavirus félins de type II

Le sérotype II du FCoV proviendrait d'une recombinaison entre le sérotype I et le CCoV (Herrewegh *et al.*, 1998). Plusieurs observations ont permis de confirmer cette hypothèse :

- Les anticorps anti-CCoV neutralisent les FCoV type II mais pas type I,
- Les souches de type II sont faciles à cultiver, comme le CCoV,
- La comparaison des génomes du CCoV et des 2 sérotypes de FCoV (Figure 6) permet de constater que les FCoV de type II ont des gènes codant pour la protéine S plus proches de ceux du CCoV que des FCoV de sérotype I (ceci explique la réaction croisée puisque la protéine S est la cible des anticorps neutralisants).

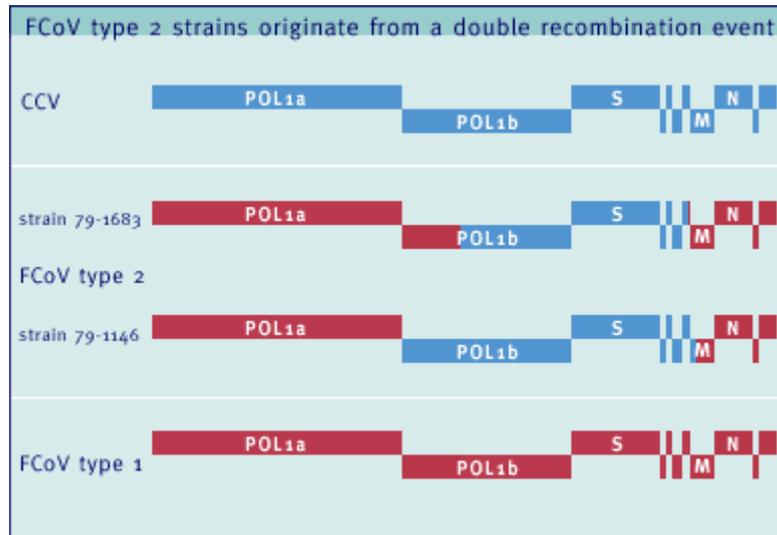
En effet, l'étude de Herrewegh *et al.* compare une partie des génomes du FCoV sérotype II (souches 79-1683 et 79-1146), de celui du CCoV (souche K378), du FCoV sérotype I (souches TN406 et UCD1) et du TGEV (souche Purdue). Cette étude a permis de conclure qu'il existait 2 sites de recombinaison sur les FCoV type II. La première se situe entre les gènes S et M et la seconde dans la région ORF1 (en deux sites différents pour les 2 souches).

Ainsi, la première portion du génome en 5' provient du FCoV type I (91,4 à 92,7% d'homologie contre 77,2 à 79,7% d'homologie avec le CCoV et le TGEV), de même pour la portion codant pour les gènes M et N (95,1 à 96,7% d'homologie avec FCoV type I contre 86,4 à 89,0% d'homologie avec le CCoV et le TGEV). Au contraire, la portion codant pour la protéine S et une partie de POL1b est plus proche du CCoV (95,1 à 96,7% d'homologie contre 86,4 à 89% d'homologie avec FCoV type I).

Les différentes souches de FCoV sérotype II étudiées présentent des sites de recombinaison distincts, ce qui laisse supposer que les événements de recombinaison ont eu lieu indépendamment sur ces deux souches.

Il n'a pas été déterminé chez quelle espèce la recombinaison avait été possible. Mais ces observations laissent supposer la possibilité d'infection d'une même espèce (chien ou chat) par les 2 types de Coronavirus.

Figure 6 : Communautés génomiques entre le CCoV et les 2 sérotypes de FCoV, montrant une probable recombinaison entre le CCoV et le FCoV I (d'après Horzinek et Lutz, 2001)



B) *Changement de tropisme*

Des changements de tropisme de certains virus ont également été mis en évidence.

Le coronavirus respiratoire porcin provient, en effet, d'une évolution du virus de la gastroentérite porcine qui a perdu son tropisme entéritique. En effet, le virus respiratoire porcin ou PRCV a émergé dans les années 80. Son génome présente une délétion de 672 nucléotides, ce qui correspond à 224 acides aminés de la protéine S. Cette évolution a provoqué un changement de tropisme : d'un tropisme digestif pour le TGEV, il est passé à un tropisme respiratoire (Vaughn *et al.*, 1995).

Des évolutions dans la pathogénicité des différents virus sont également observées.

L'extrême variabilité du génome des Coronavirus entraîne de multiples conséquences qui auront des répercussions importantes sur la compréhension des coronaviruses des Carnivores domestiques.

**DEUXIEME PARTIE :
LES CORONAVIROSES DU CHAT**

La péritonite infectieuse féline a été décrite pour la première fois en 1963 par Holzworth, comme un syndrome caractérisé par des vascularites à médiation immune et des réactions inflammatoires pyogranulomateuses (Hartmann, 2005). En 1978, un agent étiologique viral a été identifié et classé parmi les Coronavirus. Depuis, de nombreuses études ont été menées sur cet agent pour tenter de comprendre sa physiopathogénie particulièrement complexe et de trouver des moyens de lutte contre la maladie.

I. Classification

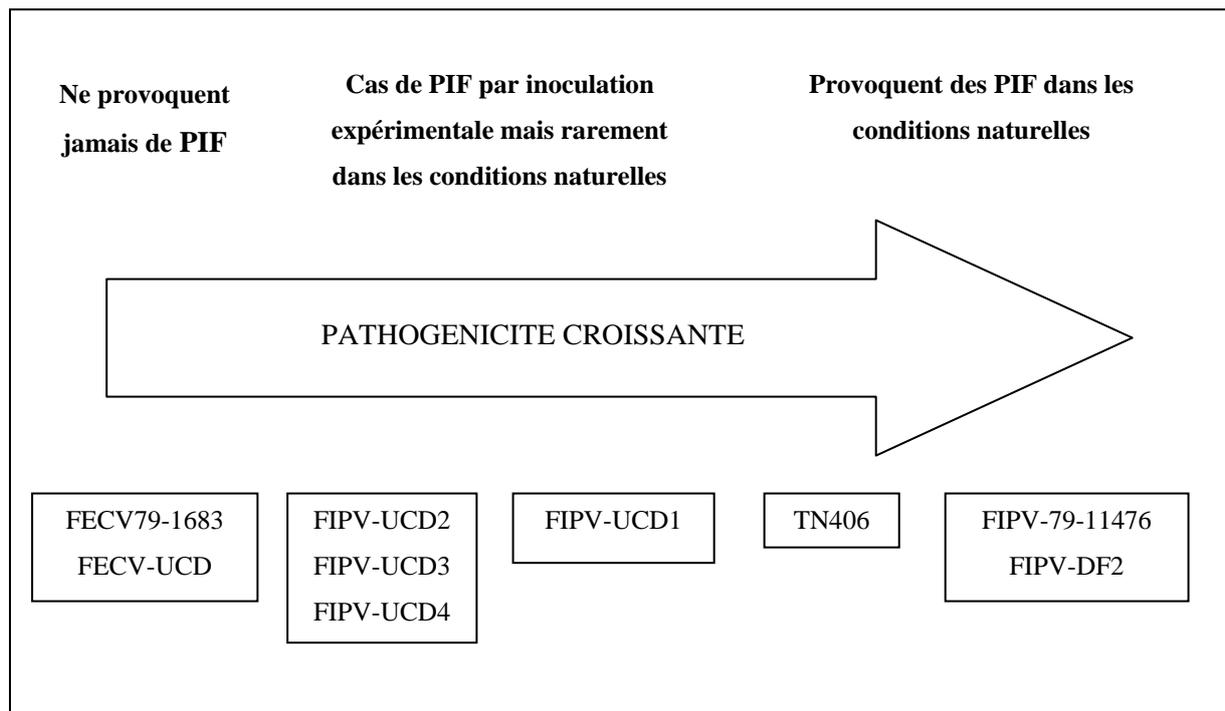
A) *Les deux biotypes*

Il existe plusieurs souches de coronavirus félines (FCoV) (Figure 7). On distingue les souches entéritiques bénignes (FECV) et les souches responsables de la Péritonite Infectieuse Féline (FIPV) (Vennema *et al.*, 1998).

Les souches FECV 79-1683 et FECV UCD sont généralement asymptomatiques mais contagieuses chez l'adulte et peuvent provoquer des diarrhées, essentiellement chez le chaton. Elles ne provoquent jamais de PIF, même lors d'inoculation expérimentale.

Les souches de FIPV sont d'une contagiosité et d'une pathogénicité variable selon la souche et la voie d'inoculation. Les 2 souches les plus virulentes sont les souches FIPV 79-1146 et FIPV-DF2, qui provoquent une PIF chez la plupart des chats infectés. La souche TN406 a également une forte virulence. Expérimentalement, la souche FIPV-UCD1 provoque facilement la PIF. Dans les conditions naturelles, cette virulence n'est pas aussi évidente : ce sont généralement les individus soumis à des réinfections fréquentes qui développent la PIF. Les souches FIPV-UCD2, FIPV-UCD3 et FIPV-UCD4 peuvent également provoquer une PIF dans des conditions expérimentales. Naturellement, les chats exposés à ces souches développent très rarement la maladie (Gonon, 1998).

Figure 7 : Pathogénicité des différentes souches de FCoV (d'après Gonon, 1998)



La différence de virulence des souches est corrélée à leur capacité à infecter une culture de macrophages et à induire l'apoptose des lymphocytes T (Haagmans *et al.*, 1996). Les FCoV semblent tous capables d'infecter les monocytes. Cependant, lors d'infections par les FECV, la production de protéines virales et de nouveaux virions cesse 24 heures après l'inoculation, ce qui n'est pas le cas lors d'infection par le FIPV, où la production virale perdure. De plus, la production de FIPV dans les monocytes sensibles est 10 à 100 fois plus importante que celle de FECV (Dewerchin *et al.*, 2005). La différence de pathogénicité entre les deux biotypes est donc liée à la capacité du FIPV à infecter durablement les monocytes, où il se multiplie intensément.

Différents éléments moléculaires pourraient expliquer cette capacité.

Une étude (Vennema *et al.*, 1998) a comparé le génome des souches de FECV et FIPV au sein d'une même chatterie. L'étude des segments de 1,2 à 8,9 kb de l'extrémité 3' du génome a permis de constater que, dans une même chatterie, les paires de bases comportaient 97,3-99,5% d'homologie. Au contraire, lorsqu'on comparait les génomes du FECV et du FIPV pour des chats provenant de deux environnements distincts, les paires de bases étaient différentes. Cette étude a permis de conclure que les FIPV dérivait des FECV par mutation, délétion et recombinaison. Les mutations sont retrouvées dans les séquences codantes (open reading frames ou ORF). Elles sont observées, en particulier, dans la séquence ORF 3c (pour 4 des 6 isolats) et /ou dans la séquence 7b (pour 3 des 6 isolats). Une mutation sur la séquence ORF 7a a également été observée.

D'autre part, seules les souches de FIPV sont capables d'infecter durablement les macrophages grâce à une structure particulière de leur protéine S (Rottier *et al.*, 2005). Cette modification, liée à une mutation génomique, pourrait être responsable du pouvoir pathogène, puisqu'elle permet au FIPV de diffuser dans tout l'organisme. La différence de structure de la protéine S entre les souches de FECV et FIPV intervient dans la région proximale de son ectodomaine. Ce serait donc la fusion membranaire et non l'attachement cellulaire qui serait facilité pour les souches de FIPV. Cette différence pourrait être un élément déterminant dans la pathogénicité du FIPV.

Récemment, l'équipe de Dye (2007) a réalisé le séquençage d'une souche clinique de PIF. Ceci permettra peut-être de mieux comprendre le support génétique de la pathogénicité du FIPV par rapport au FECV.

Les mutations touchant les Coronavirus bénins étant indépendantes, on considère que presque aucun chat atteint de PIF n'est contaminé avec un virus totalement identique (Horzinek et Lutz, 2001).

B) Les deux sérotypes

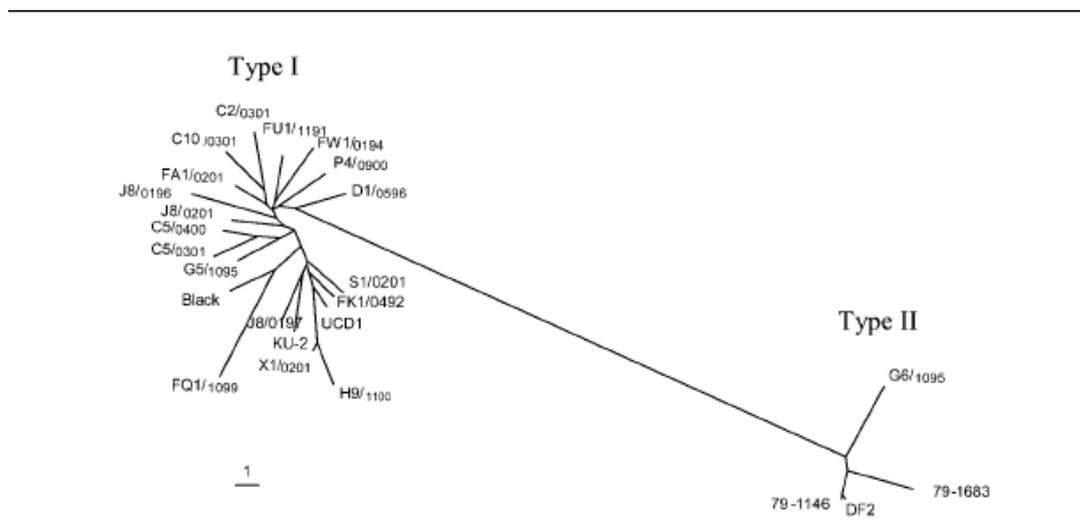
Il existe deux sérotypes, qui ne correspondent pas aux biotypes décrits précédemment. Le sérotype I est le plus fréquent, quel que soit le pays. Il ne se multiplie pas en culture cellulaire. Le sérotype II se multiplie facilement en culture cellulaire. Il correspond à une recombinaison entre le sérotype I et le coronavirus canin (CCoV) (cf supra). Les sérotypes I et II n'ont pas la même réactivité aux anticorps monoclonaux anti-S.

Une étude (Dye *et al.*, 2007) a montré que les Coronavirus félines de type I n'utilisent pas l'aminopeptidase N comme récepteur cellulaire, contrairement aux Coronavirus félines de type II et à la plupart des Coronavirus du groupe 1. En effet, des rétrovirus portant la protéine S de type I ne reconnaissent pas l'APN féline comme récepteur, alors que ceux portant la protéine S de type II interagissent avec l'APN féline.

C) Relation biotype-sérotype

Les deux biotypes ne peuvent pas être différenciés sérologiquement ou morphologiquement. Les deux sérotypes comportent donc aussi bien des souches de FIPV que de FECV. Ainsi, le sérotype I comporte les souches FIPV UCD1, UCD2, UCD3, UCD4, TN406, NW1, Yayoi, KU-2, Dahlberg, FECV UCD et le sérotype II les souche FIPV 79-1146, NOR15 (DF2), Cornell-1, FECV 79-1683 (Benetka *et al.*, 2004). L'évolution phylogénique des différentes souches a pu être déterminée par l'analyse du gène codant pour la protéine S (Figure 8).

Figure 8 : Arbre phylogénétique issu de l'analyse de la séquence S des sérotypes I et II (d'après Addie *et al.*, 2003)



Plusieurs études montrent que le sérotype I est plus fréquemment rencontré chez les chats atteints de PIF. Une étude menée par Hohdatsu *et al.* (1992) indiquait que lors d'infection confirmée par le virus de la PIF, le sérotype I était retrouvé dans 69% des cas, contre 13% pour le sérotype II. Cette large prédominance du type I au Japon a été retrouvée par Shiba *et al.* (2007). Benetka et son équipe (2004) ont effectué la même observation en Europe. Ils ont montré que, parmi les chats atteints de PIF (confirmée à l'histologie), 86% étaient contaminés par un FCoV de type I, 7% de type II et 7% par les 2 types.

Enfin, une autre étude menée en Suisse, par Kummrow *et al.* (2005), montre clairement la prédominance du type I dans ce pays (83 % de prévalence apparente). Elle confirme également que le sérotype I est plus fréquemment rencontré chez les chats atteints de PIF (Tableau 5).

Tableau 5 : Comparaison des anticorps anti-sérotypes I et anti-sérotype II dans différentes catégories de chats (par immunofluorescence) (d'après Kummrow *et al.*, 2005)

	Séropositifs	Ac type I > Ac type II	Ac type II > Ac type I	Ac Type I = Ac type II
Chats en bonne santé	50 %	35,1 %	4,4 %	10,5 %
Cas confirmés de PIF (histologie)	100 %	83 %	0 %	17 %
Groupe de référence des chats non infectés par la PIF	57 %	50 %	0 %	7 %

II. Epidemiologie

A) Epidémiologie descriptive

1) Répartition

La distribution de ce virus est cosmopolite. Il touche plusieurs félinidés : le chat, mais également des grands félinidés comme le lion, le tigre, le léopard, le lynx, le jaguar et le guépard (Heeney *et al.*, 1990).

2) Prévalence

a) FCoV

La prévalence est estimée à environ 10 à 40% pour les Coronavirus félinidés (Le Poder, 2005).

La prévalence de l'infection par les FCoV est fonction du pays et varierait de 14,6 % au Japon à plus de 70 % en Autriche (Kummrow *et al.*, 2005). En Suisse, elle semble avoir fortement augmenté entre 1987 et 1997 et serait, actuellement, d'environ 50 % chez les chats errants et de 80 % en chatterie. Aux Etats- Unis, la prévalence est particulièrement importante : environ 70 à 100 % des chats vivant en chatterie sont séropositifs (Cachon et Chuzel, 2005a) et 25% des chats vivants seuls (McReynolds et Macy, 1997a).

Le sérotype I est prédominant dans la plupart des pays, ainsi de 69 à 91% des chats atteints par un FCoV le seraient par le sérotype I (Shiba *et al.*, 2007).

b) FIPV

Entre 5 et 12% des chats à sérologie positive développent la FIP (Addie et Jarett, 1992). L'importance de cette maladie semble augmenter depuis quelques années. Le nombre de cas diagnostiqués dans les services de différentes universités européennes serait passé de 1,5% dans les années 70, à 10% dans les années 90 (Cachon et Chuzel, 2005a). Ce phénomène est probablement dû à une recherche plus fréquente par les praticiens lors de symptômes évocateurs.

3) Facteurs de risque

a) Race

L'infection est plus fréquente chez les chats de race (53% d'après Vennema *et al.*, 1998), probablement à cause d'une pression virale plus importante en élevage, mais également d'une sensibilité à déterminisme génétique. Une étude de Benetka *et al.* (2004) va dans le sens d'une sensibilité plus élevée des chats de race. Dans un groupe de chats atteints de PIF (confirmée à l'histologie), on trouve une proportion de chats de race de 33,6% alors que dans le groupe témoin (chats sans symptômes), on ne trouve que 13,5% de chats de race.

Pesteanu-Somogyi *et al.* (2006) ont tenté de préciser les races les plus susceptibles. Ils ont recensé tous les cas reçus à la North Carolina State University entre 1986 et 2002. Ils ont conclu à une prévalence de la PIF de 0,52%. La prévalence chez les chats croisés était de 0,35% alors qu'elle était de 1,3% chez les chats de race pure. Cette étude a également permis de constater que certaines races avaient une prévalence pour la PIF significativement plus importante, comme l'Abyssin, le Bengal, le Birman, le Ragdoll et les Rex. Dans les autres races étudiées, la différence de prévalence par rapport aux chats croisés n'était pas significative. Cette dernière observation tend à confirmer que la prédisposition raciale est bien d'origine génétique, et pas uniquement liée aux conditions d'élevage.

b) Sexe

La plupart des études ne montrent pas de différence significative entre mâles et femelles. Cependant, Benetka *et al.* (2004) obtiennent 62,4% de mâle contre 37,6% de femelles, parmi 154 cas de PIF confirmée. Ceci constitue statistiquement une différence significative.

Certains auteurs rapportent que les animaux entiers seraient plus fréquemment atteints.

c) Age

L'apparition de la maladie est plus fréquente chez les chats de 6 à 24 mois et chez les chats de plus de 7 ans. Les chatons de moins de 6 mois développent rarement la maladie, probablement parce qu'ils sont protégés par les anticorps maternels et que la période d'incubation est de plusieurs semaines.

d) Mode de vie

La prévalence dépend généralement de la population étudiée (animal vivant seul ou en collectivité). Ainsi, elle serait de 84% chez les chats d'exposition contre 28% pour les chats tout venant.

En collectivité, on peut avoir un effectif indemne (avec aucune sérologie positive), s'il n'y a jamais eu introduction d'un Coronavirus, ou un effectif où 80 à 90% des animaux sont séropositifs. En effet, si un Coronavirus est présent dans un élevage, la plupart des animaux seront en contact et deviendront séropositifs car les Coronavirus (FECV) sont très contagieux. Les élevages infectés par des Coronavirus bénins avec des individus fortement excréteurs et des porteurs asymptomatiques, qui entretiennent les recontaminations, ont plus de risque de voir se développer des formes cliniques de PIF au sein de l'effectif.

B) Epidémiologie analytique

1) Sources d'infection

Les animaux se contaminent par contact avec les fèces d'animaux excréteurs.

Les porteurs asymptomatiques sont la principale source de contamination (Addie et Jarrett, 1992). Les chats malades peuvent excréter un FCoV (Addie *et al.*, 1996) mais l'excrétion virale serait plus faible chez ces animaux (Le Poder, 2005). Ils cessent généralement d'excréter à l'apparition des premiers signes cliniques. Le virus de la PIF est essentiellement présent dans les macrophages et dans les lésions internes, et n'accède pas à l'extérieur. Il n'est, cependant, pas totalement exclu qu'un animal présentant des lésions rénales ou intestinales excrète le virus dans ses urines ou ses fèces (Addie *et al.*, 2004c). Ce type de transmission semble cependant rarissime. Les souches de FIPV circuleraient donc beaucoup moins facilement que les souches de FECV. Ainsi, on suppose que l'animal est, tout d'abord, contaminé par un FECV et développerait une PIF par mutation de la souche bénigne au cours de la multiplication virale.

Le niveau d'excrétion dépend de l'animal et de sa réaction face à l'infection (l'excrétion n'a lieu qu'à partir d'un certain seuil de multiplication). Différentes catégories d'excréteurs ont été définies par Addie et Jarret (2001) grâce à l'étude de l'excrétion par PCR sur les fèces :

- Certains chats sont résistants et n'excrètent jamais le virus (environ 2,5%),
- Environ 15% excrètent continuellement une quantité importante de virus (infectés permanents),
- La grosse majorité des chats (65%) sont excréteurs temporaires et n'excrètent le virus que pendant l'infection. Ils éliminent ensuite le virus et cessent de l'excréter. Dans cette catégorie, 56% ne se réinfectent pas (36% du total des chats) et environ 44% (28% du total des chats) se réinfectent et réexcrètent transitoirement le virus avant de l'éliminer à nouveau.

(Chez 17,5% des chats le statut n'a pas pu être déterminé).

L'excrétion commence le deuxième jour post-infection (Meli *et al.*, 2004) et dure quelques semaines à quelques mois. On retrouve du virus dans les sécrétions oro-pharyngées pendant 2 à 11 jours et dans les fèces pendant 2 à 15 jours après infection. Environ 75% des chats n'excrètent plus le virus dans les fèces 3 mois après la contamination, et 95% 9 mois après (Addie et Jarrett, 2001).

Les chats séropositifs ont 33% de risque d'être excréteurs (Addie et Jarrett, 1992) alors que les chats séronégatifs ne le sont que s'ils sont en phase de séroconversion (Eloit, 1994). Il semble que plus le chat a un titre élevé en anticorps et plus le risque qu'il excrète le virus dans ses fèces est grand (Pedersen *et al.*, 2008).

Les plus gros excréteurs sont les chatons (Pedersen *et al.*, 2008) et les jeunes de moins de 3 ans. Les chatons n'excrètent cependant jamais le virus avant l'âge de 9 à 10 semaines.

2) Mode de transmission

La transmission est essentiellement horizontale directe par les fèces pour le FECV. Le FIPV pourrait être excrété dans les urines et la salive. La principale voie de contamination reste, cependant la voie oronasale par contact avec des fèces de chat excréteur.

Les individus peuvent se recontaminer plusieurs fois avec la même souche ou une souche différente. Le virus persiste donc dans la communauté par des passages entre infectés permanents et transitoires. Un même animal n'est généralement atteint que par une seule souche à la fois (Kiss *et al.*, 2000). Cependant, une étude d'Addie *et al.* (2003) montre qu'une co-infection par deux souches différentes serait possible.

La contamination verticale est possible mais rarissime (Hartmann, 2005).

La contamination indirecte est très rare car le virus est très peu résistant dans le milieu extérieur. Une étude a montré que le virus pouvait tout de même persister sur des surfaces sèches 3 à 7 semaines. Cependant, il ne persiste que deux semaines en quantité suffisamment importante pour être infectante (Gonon, 1998). Une transmission indirecte serait donc possible mais rare via le matériel et le soigneur (Hickman *et al.*, 1995).

La contamination d'un effectif nécessite l'introduction d'une souche de FECV, puis sa mutation en souche pathogène. Cette introduction intervient, généralement, par voisinage, lors d'expositions ou de saillies.

III. Physiopathologie des coronaviroses félines

A) Infection asymptomatique ou subclinique

La contamination est oronasale. Le chat s'infecte essentiellement par ingestion du virus, plus rarement par inhalation. La multiplication a lieu, dans un premier temps, dans l'oropharynx, l'appareil respiratoire supérieur ou l'intestin, selon la voie d'entrée. Une multiplication dans les nœuds lymphatiques locorégionaux est également possible (Gonon, 1998).

Une multiplication intense dans l'épithélium intestinal provoque de la diarrhée chez certains chats. Cependant, le virus persiste généralement une longue période dans l'organisme avant l'apparition des premiers signes cliniques (Hartmann, 2005).

Deux à six jours après la pénétration du virus, on observe une virémie transitoire d'une semaine environ. Le virus circule dans l'organisme, libre ou transporté par les monocytes essentiellement. Il atteint alors le foie, la rate et les nœuds lymphatiques (Gonon, 1998). Le chat peut présenter une rhinite, une conjonctivite ou une entérite modérées, mais est généralement asymptomatique.

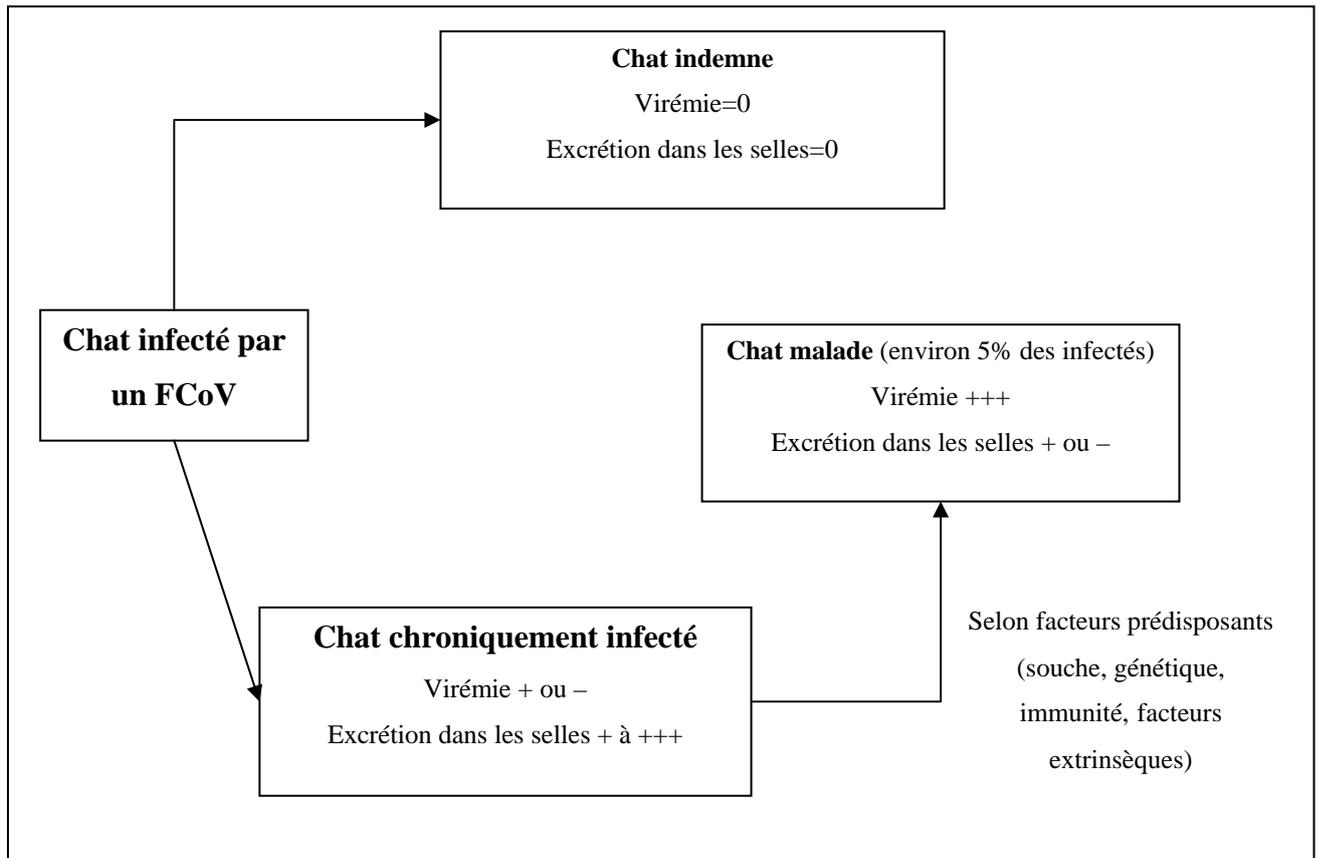
Une grande partie des chats élimine alors le virus sans présenter de symptôme (Gunn-Moore *et al.*, 1998). Certains chats restent porteurs asymptomatiques et présentent un titre en anticorps anti-coronavirus félin positif. Cette possibilité d'infection chronique par les FCoV a été démontrée en isolant deux chats excréteurs et en suivant leurs niveaux d'excrétion (Horzinek et Lutz, 2001). Ces chats ont continué d'excréter le virus jusqu'à sept mois plus tard. Cette observation montre qu'une infection persistante est bien possible et permet de faire la distinction avec des réinfections successives. Chez ces animaux, la maladie peut se déclarer à n'importe quel moment, en particulier si le chat est soumis à un stress (Figure 9).

B) Evolution vers une PIF clinique

La pathogénie particulière du virus de la PIF par rapport aux coronavirus entéritiques classiques serait liée à une mutation génomique dans le gène S (cf supra). Ce changement lui permettrait d'infecter plus facilement les macrophages, de circuler dans l'organisme transporté par ces cellules et d'atteindre d'autres organes. Les FECV restent généralement localisés à l'épithélium intestinal. Une virémie peut être associée à une infection par les FECV mais leur incapacité à infecter durablement les monocytes et à s'y multiplier de manière suffisante expliquerait que la maladie ne progresse pas dans tout l'organisme (Dewerchin *et al.*, 2005). Une étude de Meli *et al.* (2004) a montré que, lors d'infection par un FCoV type I, on retrouvait des quantités de virus importantes dans de nombreux organes (en particulier la rate, les nœuds lymphatiques et la moelle osseuse), sans symptôme ou lésion associé.

Chez certains chats (environ 5%), présentant une sensibilité particulière (voir D. Déterminisme du pouvoir pathogène), la PIF se développe après mutation du FECV en FIPV. Le délai entre l'infection par le FCoV et le développement de la PIF est très variable. On observe une deuxième virémie qui permet au virus de disséminer dans l'organisme en une quinzaine de jours. Ce risque semble important entre 6 et 18 mois après infection par le FCoV et chuterait après 36 mois (Addie *et al.*, 1995). Le virus peut alors atteindre les séreuses des cavités abdominales, thoraciques et péricardiques, l'œil ou les méninges. Le chat présente alors des symptômes de PIF. L'intervalle entre la mutation et les premiers symptômes pourrait être de quelques semaines à 2 ans, en fonction du statut immunitaire du chat.

Figure 9 : Différentes évolutions possibles de l'infection par le FCoV (d'après Eloit et Le Poder, 2004)



C) Mécanismes immunitaires mis en jeu

Les lésions retrouvées chez les chats développant une PIF sont liées à une cascade de mécanismes immunitaires provoquée par la pénétration du virus dans les monocytes-macrophages.

1) Rôle des cytokines et médiateurs de l'inflammation

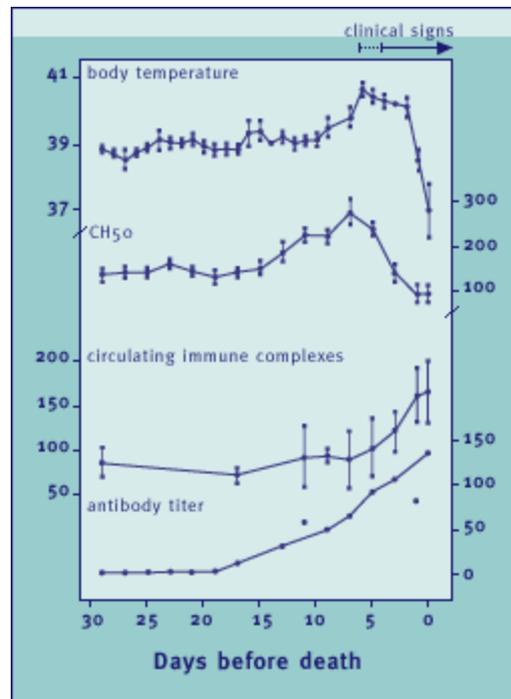
a) Le complément

Les macrophages infectés libèrent des facteurs du complément, qui induisent le relargage d'amines vasoactives. Celles-ci augmentent la perméabilité vasculaire en provoquant la rétraction des cellules endothéliales. Le facteur retrouvé est le facteur C3a.

Chez des chats infectés expérimentalement, on a retrouvé, parallèlement à l'apparition des premiers signes cliniques, une augmentation des concentrations en C3 dans le plasma, puis une augmentation des titres en anticorps et en immun-complexes circulants alors que la

concentration en C3 diminue. Lors du décès, les concentrations sont donc maximales en immun-complexes et minimales en C3 (Horzinek et Lutz, 2001) (Figure 10)

Figure 10 : Relation entre l'évolution des signes cliniques, la température corporelle, le niveau du complément et les concentrations en anticorps et complexes immuns dans le plasma (d'après Horzinek et Lutz, 2001)



b) Médiateurs de l'inflammation

Les macrophages libèrent également des médiateurs de l'inflammation (prostaglandines, cytokines, leucotriènes). Ceux-ci activent des enzymes protéolytiques, ce qui provoque des lésions cellulaires (Hartmann, 2005). Ces substances stimulent également les monocytes et neutrophiles, qui libèrent à leur tour des substances cytotoxiques et des médiateurs.

L'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-12, l'IL-18, la TNF- α , la (MIP)-1 α (macrophage inhibitory protein) et la RANTES sont augmentées dans les cas de PIF, en particulier dans les formes généralisées par rapport aux formes neurologiques (Foley *et al.*, 2003).

Le rôle des différents facteurs de l'inflammation est résumé dans le tableau 6.

Tableau 6 : Rôle des différents médiateurs de l'inflammation dans la physiopathologie de la PIF (d'après Gonon, 1998 et Foley *et al.*, 2003)

Médiateurs de l'inflammation	Rôle dans la physiopathologie
IL-1 β (synthèse dans différentes cellules immunitaires activées)	<ul style="list-style-type: none"> - augmente la perméabilité vasculaire - provoque la destruction locale des tissus - favorise le recrutement des polynucléaires et l'adhésion des macrophages sur l'endothélium vasculaires - provoque l'hyperthermie - provoque l'hypergammaglobulinémie
IL-6 (synthèse dans les cellules endothéliales lésées et les macrophages)	<ul style="list-style-type: none"> - provoque l'activation des lymphocytes B (donc l'aggravation des lésions) - recrute et provoque l'activation des lymphocytes T et macrophages - module la différenciation des cellules plasmatiques - augmente la perméabilité vasculaire - contribue à une destruction auto-immune dans le système nerveux central - provoque l'hyperthermie
MIP-1 α (secrétée par macrophages, neutrophiles, fibroblastes, astrocytes et lymphocytes) et RANTES (synthèse par les lymphocytes T)	<ul style="list-style-type: none"> - chémokines qui attirent les macrophages, monocytes, cellules T et éosinophiles pour le premier et les lymphocytes T mémoire, les cellules dendritiques, les cellules NK, les éosinophiles, les basophiles et les macrophages pour le second. - provoquent l'hyperthermie
Leucotriènes B (libération par macrophages et neutrophiles)	<ul style="list-style-type: none"> - augmentent la perméabilité vasculaire - provoquent l'hyperthermie
PGE2 (libération par macrophages et neutrophiles)	<ul style="list-style-type: none"> - augmente la perméabilité vasculaire - provoque l'hyperthermie - s'oppose aux interférons donc favorise la réplication virale

Une étude de Takano *et al.* (2007a) a montré que l'infection par la PIF provoquait une leucopénie périphérique, liée à une apoptose des lymphocytes T (en particulier CD8) par un facteur présent dans le liquide d'épanchement et le plasma des chats contaminés. Le facteur en question serait le TNF- α , relargué par les macrophages infectés, qui provoque l'apoptose des lymphocytes T.

Il apparaît, d'ailleurs, qu'une quantité élevée de TNF- α et une quantité faible d'INF- γ sont associées à la maladie. Alors que, lors du développement d'une immunité contre la PIF, on a plutôt une quantité faible de TNF- α et élevée d'INF- γ (Kiss *et al.*, 2004). En effet, l'INF- γ

aurait des propriétés antivirales directes. Cependant, une étude menée par Giordano et Paltrinieri (2008) n'a pas montré de différence significative dans les quantités d'IFN- γ sanguines des chats sains excréant un FCoV et des chats atteints de PIF. Elle a, au contraire, montré une importante quantité d'IFN- γ dans le liquide d'effusion des chats malades. Le rôle de cette molécule dans la physiopathologie de la PIF reste donc encore à élucider.

Une autre étude, menée par Takano *et al.* (2007b) a permis de montrer que le TNF- α joue également un rôle dans la régulation de l'expression de l'APN féline (récepteur cellulaire de certains FCoV) à la surface des cellules. En effet, la réplication du FIPV dans les macrophages provoque, apparemment, le relargage du TNF par les macrophages infectés. Ce facteur induit ensuite une augmentation d'expression de l'APN féline à la surface des cellules et donc une sensibilisation à l'infection, puisque les récepteurs au virus sont plus nombreux.

2) Modalités de formation des lésions

a) Forme humide

Lors de forme humide, on retrouve une formation excessive d'anticorps anti-FIPV. Les complexes anticorps-antigènes ne sont pas détruits, car l'immunité cellulaire est effondrée (Hartmann, 2005). Il en résulte des dommages vasculaires qui provoquent le passage des fluides dans le milieu extracellulaire. Ces lésions de vascularite touchent surtout les petites veinules, où se fixent les immun-complexes, provoquant des lésions vasculaires et périvasculaires. Ainsi, on retrouve le plus fréquemment ces dépôts dans les zones de haute pression sanguine : en région péritonéale, dans le rein et l'uvée (Hartmann, 2005).

La vascularite facilite aussi l'exsudation des macrophages. Les lésions pyogranulomateuses sont liées au passage de ces cellules dans le liquide d'épanchement, qui s'attachent aux séreuses thoraciques et abdominales.

La vascularite provoque, enfin, une consommation des plaquettes et des facteurs de coagulation, ce qui explique les phénomènes de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), les thrombopénies et la diminution des facteurs de coagulation rencontrés lors de PIF.

b) Forme sèche

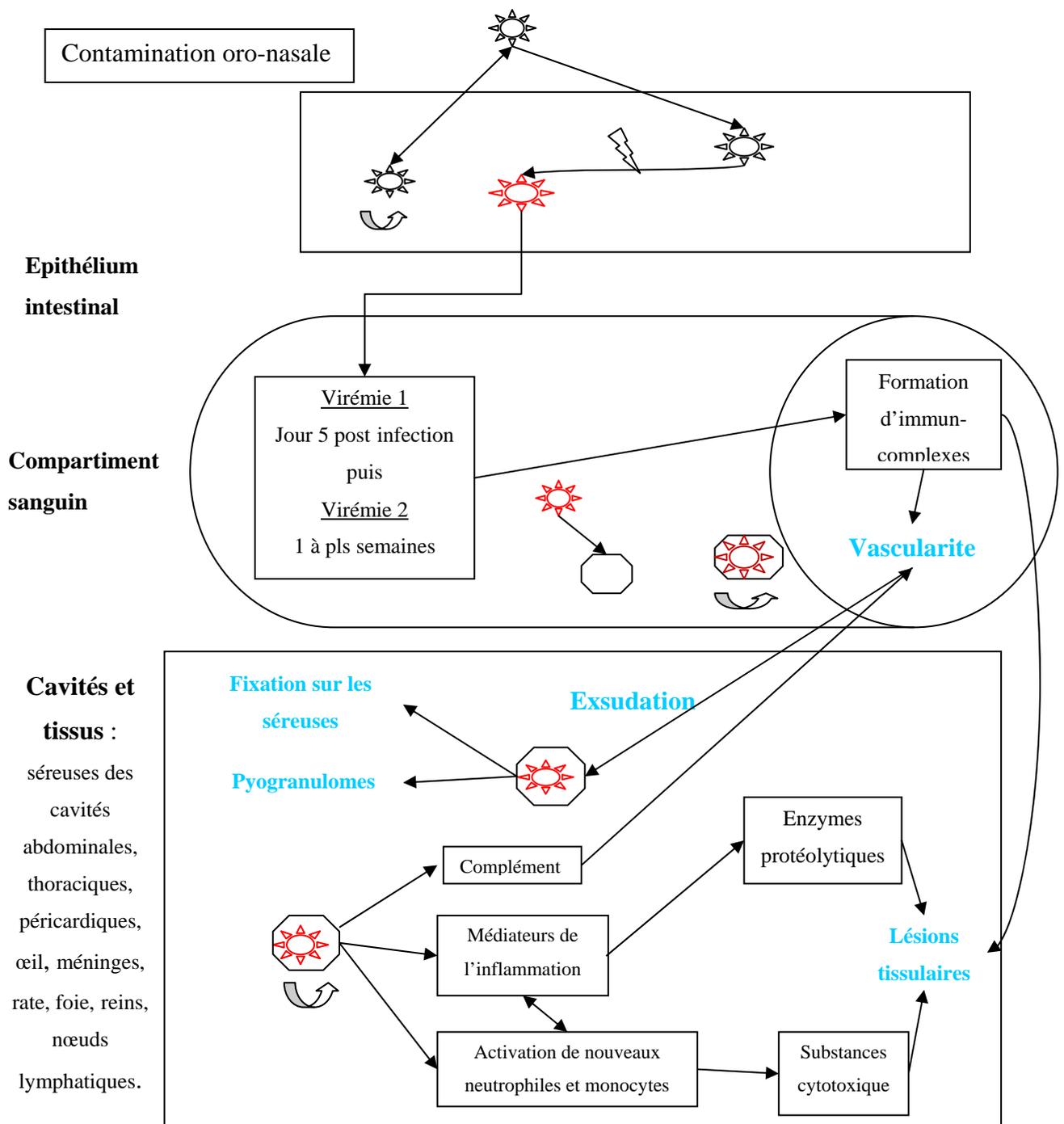
Les premières étapes de l'infection sont probablement semblables. Cependant, la réponse cellulaire est plus importante. Cette immunité cellulaire diminue la quantité de virus, que l'on retrouve moins dans les macrophages. On observe des lésions pyogranulomateuses liées aux lésions vasculaires et périvasculaires nécrotiques, dans les ganglions mésentériques, le foie, la rate, le pancréas et le péritoine. Les fuites vasculaires sont, par contre, minimes car la réaction humorale est faible.

Les lésions oculaires retrouvées lors de formes sèches s'expliquent par le même type de lésions pyogranulomateuses et nécrotiques mais localisées dans l'iris, les corps ciliaires et la rétine.

De même, les lésions du système nerveux central correspondent à une atteinte du plexus choroïde, des méninges ou de l'épendyme. Il s'agit d'une méningo-encéphalomyélite pyogranulomateuse.

La figure 11 résume les mécanismes immunitaires mis en jeu et le rôle des différents médiateurs de l'inflammation dans la physiopathologie de la PIF et la formation des lésions.

Figure 11 : Physiopathogénie de la PIF (d'après Poindessault Santa-Croce, 2006)



D) Déterminisme du pouvoir pathogène

1) La souche virale

Les souches très virulentes sont supposées entraîner systématiquement une PIF, alors que les souches entériques bénignes n'entraînent jamais de PIF (sauf après mutation en souche virulente). Les souches moyennement pathogènes entraînent des PIF en fonction des caractères de susceptibilité propre à chaque animal.

Si la virulence de la souche joue un rôle dans l'apparition de la maladie, de nombreux autres éléments entrent également en compte.

2) Statut immunitaire

Les souches de FIPV moyennement virulentes entraînent des symptômes chez certains individus et pas chez d'autres. Ceci s'explique par la capacité des défenses immunitaires à limiter les symptômes chez certains chats. Ainsi, le fait qu'un chat devienne infecté permanent ou transitoire semble indépendant de la souche virale, mais serait plutôt déterminé par la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection (Addie *et al.*, 2003).

a) Rôle de l'immunité locale

Une forte immunité au niveau de la muqueuse d'entrée du virus (Ig A) permettrait de protéger les chats contre le FIPV. Ceci est d'ailleurs employé dans le vaccin actuellement commercialisé.

b) Rôle de l'immunité cellulaire

L'immunité cellulaire semble avoir un rôle essentiel dans l'éventuel développement de la maladie, bien que les lymphocytes ne soient pas les cibles primaires du virus. En effet, si la réponse cellulaire initiale est suffisante, le virus se développe plus lentement et le chat ne déclare pas la maladie. Le virus est éliminé ou peut également persister dans les nœuds lymphatiques et se redévelopper à l'occasion d'une dépression de l'immunité cellulaire. Au contraire, si la réponse cellulaire est médiocre, le virus se réplique de manière importante, le nombre de lymphocyte T diminue alors rapidement et le système immunitaire est incapable de lutter contre l'infection. L'efficacité de la réponse immunitaire cellulaire précoce est donc un élément déterminant dans l'évolution de la maladie (De Groot-Mijnes *et al.*, 2005).

La chute importante des lymphocytes T (CD4+ et CD8+), observée chez les malades est due à la production de facteurs pro-apoptotiques par les macrophages (Haagmans *et al.*, 1996 ; Paltrinieri *et al.*, 2003). La déplétion des lymphocytes T induite par le virus et la réponse T antivirale s'opposent donc en permanence. Ceci explique la présence de fièvre et pertes de

poids intermittentes, correspondant aux vagues de lymphopénie (De Groot-Mijnes *et al.*, 2005).

c) Rôle de l'immunité humorale

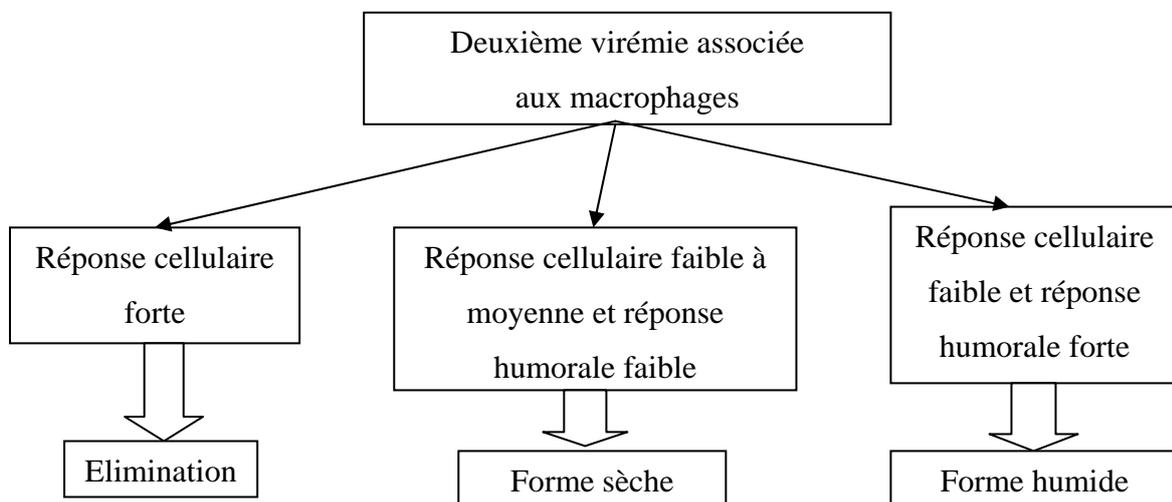
Le rôle de la réponse humorale dans la protection contre l'infection est complexe.

Dewerchin *et al.* (2006) ont montré que seulement la moitié des monocytes infectés exprimaient les protéines virales à leur surface et que la présence d'anticorps anti-FIPV induisait l'internalisation de ces protéines. Ce phénomène explique que le système immunitaire humoral soit incapable de lyser les cellules infectées, puisque celles-ci sont masquées par l'internalisation des protéines virales.

De plus, l'infection par le FIPV induit le relargage de cytokines par les monocytes-macrophages. Celles-ci régulent la croissance des lymphocytes B et la prolifération des monocytes. Cette prolifération aggrave les lésions et maintient l'inflammation (Kipar *et al.*, 1998).

Ainsi, si la réponse cellulaire est médiocre, l'immunité humorale se développera de manière plus intense, provoquant des lésions inflammatoires importantes. Le chat développera alors une forme humide de PIF. Si les deux types de réponse immunitaire sont faibles, le chat développera une forme sèche de PIF (Figure 12).

Figure 12 : Rôle de l'immunité dans l'évolution de la PIF (d'après Cachon et Chuzel, 2005a)



d) Cas d'une réponse immunitaire préexistante

Des études ont montré que lors d'infection expérimentale, les chats séropositifs développaient plus rapidement la maladie (durée minimale d'incubation de 7 jours) que les chats séronégatifs (durée minimale d'incubation de 16 jours) (Eloit, 1994). Ce phénomène serait lié à une reconnaissance des complexes immuns (les anticorps anti-S formeraient des

complexes avec le virus sans le neutraliser) par les récepteurs Fc des macrophages, qui faciliterait leur infection (Olsen *et al.*, 1992). Une réponse immunitaire préexistante peut donc, dans certains cas, accélérer l'évolution de la maladie. En effet, un chat possédant une sérologie positive pour le FIPV aura une immunité humorale plus importante et développera donc plus rapidement une forme humide de PIF, si son immunité cellulaire est insuffisante.

Ceci pose problème pour l'élaboration des vaccins. En effet, les chats vaccinés avec un vaccin recombinant contenant le gène codant pour la protéine S meurent plus rapidement lorsqu'ils sont exposés à un virus virulent (Vennema *et al.*, 1990). Ainsi, les épitopes de la protéine S sont à la fois responsables de la neutralisation, recherchée par la vaccination et de la facilitation de l'infection du macrophage. Certains anticorps dirigés contre la protéine M seraient également facilitants. Ce phénomène de facilitation est appelé antibody-dependant enhancement.

Cependant, lors d'infection naturelle, la capacité du chat à éliminer le virus serait, au contraire, corrélée à l'intensité de la réponse humorale dirigée contre les protéines M et S, c'est-à-dire à un ratio (anticorps anti-S)/(anticorps anti-M) élevé (Gonon *et al.*, 1999). De plus, les chatteries où des chats ont développé une PIF ne semblent pas plus à risque que les autres et le risque d'infection par la PIF semble décroître lors de réinfections successives par le FECV (Addie *et al.*, 1995). Cette contradiction s'explique probablement par des différences entre les souches naturelles et expérimentales et par les conditions d'inoculation. Lors des infections expérimentales, les doses de virus sont très élevées, les anticorps perdent leur pouvoir neutralisant et forment des immuns complexes avec les particules virales. Ces complexes induisent alors l'infection des macrophages, l'activation du complément et les lésions de vascularite.

3) Déterminants génétiques

a) Eléments observés en chatterie

La sensibilité à l'infection par le FECV (statut d'excréteur chronique ou élimination du virus) ne semble pas héréditaire. En effet, une étude (Pedersen *et al.*, 2008) a tenté de démontrer que la capacité de résistance à l'infection par le FECV était sous contrôle génétique. Pour cela, l'excrétion de FECV dans les fèces a été suivie sur un groupe de jeunes chats. Les chats arrêtant d'excréter ont été accouplés avec des chats de même profil et les chats excréteurs chroniques entre eux, pour créer une lignée résistante et une lignée sensible. Après trois ans, l'étude a conclu que le facteur sensibilité/résistance au FECV n'était pas un caractère génétique Mendélien et que les facteurs environnementaux avaient un rôle essentiel.

Au contraire, certaines observations laissent supposer que le développement d'une PIF dépend d'une composante héréditaire. En effet, les chats de race pure sont plus fréquemment atteints. Ainsi, les Abyssins, Bengales, Birmans, Ragdolls et Rex présentent une forte prévalence de la maladie. Ces observations pourraient être expliquées par un risque de transmission accru dans les élevages (en raison de la pression virale et de la vie en collectivité). Cependant, d'autres races, comme les Burmeses, Exotic Shorthairs, Manx,

Russes et Siamois ne présentent pas plus de risque que les chats européens (Pesteanu-Somogyi *et al.*, 2006).

Une étude (Foley et Pedersen, 1996) a montré la prédisposition de certaines lignées à développer une PIF. En effet, de nombreux cas sont retrouvés dans certaines lignées alors que dans des lignées, élevées dans le même environnement, la maladie n'est jamais observée. Les descendants directs de chats atteints ont beaucoup plus de risque de développer également une PIF. Cette étude évalue l'héritabilité à environ 50% (0,542 dans la chatterie de Persans étudiée et 0,521 dans la chatterie de Birmans). L'étude des pedigrees laisse supposer que la susceptibilité à la PIF suivrait un modèle polygénique.

De même, plusieurs chatons d'une même portée et les chatons des portées successives d'une même mère succombent à l'infection alors que les autres chats de la collectivité restent indemnes (Addie et Jarrett, 1992).

b) Eléments observés sur les félidés sauvages

D'autre part, plusieurs félidés sauvages montrent une sensibilité très élevée au coronavirus félin. L'étude d'une épizootie de PIF dans un groupe de guépards captifs en Oregon en 1982 (Heeney *et al.*, 1990), montre une morbidité de 90% et une mortalité de 60%. Cette sensibilité s'expliquerait par un déterminisme génétique affectant le complexe majeur d'histocompatibilité de type I. Les guépards sont particulièrement à risque, en raison du faible nombre de lignée et donc du fort taux d'homozygotie de leur génome.

Les gènes du complexe félin de classe II pourraient être à l'origine de la susceptibilité génétique au virus de la PIF. Cependant, les allèles du FLA-DRB de classe II ont été étudiés sans qu'aucune conclusion ne soit possible pour le moment (Addie *et al.*, 2004 b).

4) Facteurs de risque extrinsèques

Le risque de développer une PIF est corrélée à une forte pression virale dans le milieu et donc à un fort risque de transmission : présence d'excréteur chroniques, promiscuité et densité importante de chats, hygiène insuffisante des litières.

Les chats développant une PIF ont souvent subi un stress important quelques semaines à quelques mois auparavant. Un changement de lieu de vie, une augmentation de la densité animale ou un changement de hiérarchie dans une chatterie, une chirurgie ou une mise bas pourraient ainsi favoriser l'émergence d'une PIF.

Ainsi, les chats vivants dans des chatteries à effectifs très importants, qui subissent un stress quotidien lié à la densité de population, développeraient davantage la PIF que les animaux vivant dans des chatteries de moins de 8 animaux (McReynolds et Macy, 1997b).

Enfin, l'infection concomitante par un autre virus, comme le virus de la leucose féline (FeLV) ou de l'immunodéficience féline (FIV), est un facteur prédisposant. L'augmentation du risque

de développer une PIF s'explique par un affaiblissement de la réponse immunitaire chez les individus atteints par ces infections chroniques. Cependant, dans une chatterie où sévissaient le FIV, le FeLV et le FCoV, seul un chat est mort de PIF en 10 ans (Addie *et al.*, 2000).

IV. Symptômes

Lors d'infection naturelle, la date d'infection est rarement connue, mais la période d'incubation semble être comprise entre 1 mois à plus d'un an. Elle est de 2 à 3 semaines dans les cas d'inoculation expérimentale (Le Poder, 2005).

A) Prémices de l'infection

Quand un chat est infecté par le coronavirus entéritique, les symptômes concernent essentiellement l'intestin et les voies respiratoires supérieures car le virus reste localisé à ces appareils. On observe des diarrhées ou des vomissements, pouvant entraîner une perte de poids ou un retard de croissance chez les chatons. Chez la plupart des chats, l'affection reste cependant asymptomatique (Addie et Jarrett, 1992).

Lors d'affection par un FIPV, les symptômes sont d'abord polymorphes et assez frustrés : les chats atteints présentent une hyperthermie ne rétrocedant pas aux traitements mis en place, une anorexie, un amaigrissement, une déshydratation, des muqueuses pâles (en raison d'une anémie) et une léthargie (Gamet, 1999).

B) Evolution vers une PIF clinique

Cliniquement, la PIF peut prendre des formes très variées, même à un stade avancé. En effet, différents organes peuvent être touchés et on observe des symptômes divers et non spécifiques.

On distingue généralement 2 formes de PIF : la forme humide, caractérisée par des exsudats, et la forme sèche, caractérisée par la présence de granulomes. Les deux formes peuvent être présentes chez un même animal.

1) Forme humide

Elle est la plus fréquemment rencontrée chez les chats atteints de PIF, de 58 à 80% des cas (Cachon et Chuzel, 2005a). Elle est caractérisée par une péritonite, une pleurite et une péricardite fibrineuse. On retrouve également une effusion.

L'épanchement retrouvé est généralement abdominal (62 % des cas). On observe alors un signe du flot positif, avec une distension abdominale symétrique, progressive, non douloureuse (Gamet, 1999) (Figure 13). Un épanchement thoracique est présent dans 21 % des cas. Dans 17 % des cas, les 2 cavités sont atteintes (Hartmann, 2005). Lors

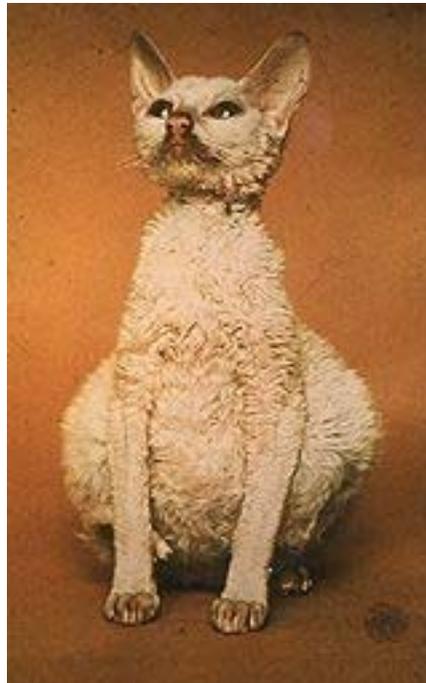
d'épanchement pleural, une péricardite fibrineuse est parfois associée. Dans quelques rares cas, le scrotum est également atteint (McReynolds et Macy, 1997a).

Des troubles digestifs sont souvent retrouvés, liés à l'inflammation de l'appareil digestif consécutif à la péritonite, diarrhées, constipation et vomissements principalement.

Lors d'épanchement thoracique ou abdominal, l'animal présente souvent une dyspnée et une discordance, liées à la réduction de la capacité pulmonaire (compression du diaphragme ou du poumon par l'épanchement).

Un ictère peut également être observé.

Figure 13 : Chat atteint par une forme humide de PIF, provoquant une distension importante de l'abdomen (d'après Horzinek et Lutz, 2001).



2) Forme sèche

On retrouve des lésions granulomateuses sur différents organes. Les organes fréquemment touchés sont les reins, le foie, les nœuds lymphatiques (en particulier mésentériques), les intestins (colon ou jonction iléo-caecale), le système nerveux et les yeux.

Une palpation abdominale anormale (augmentation des nœuds lymphatiques, surface splénique ou rénale irrégulière) serait constatée dans 69% des cas (Cachon et Chuzel, 2005a).

Les symptômes dépendent donc de l'organe touché et de la gravité de l'atteinte.

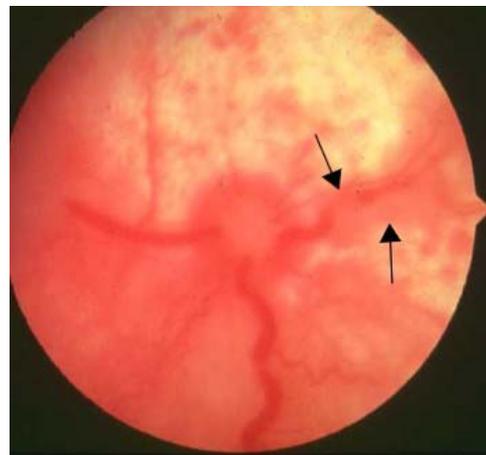
Lors d'atteinte rénale, on peut observer une insuffisance rénale caractérisée par une polyuro-polydipsie.

Une atteinte hépatique peut provoquer un ictère.

Lors d'atteinte digestive différents troubles digestifs sont possibles : diarrhée, vomissements. Une hypertrophie du ganglion mésentérique est souvent constatée et des nodules intestinaux sont parfois palpables (Gamet, 1999). Les lésions sont principalement situées au niveau de la jonction iléo-caecale (Hartmann, 2005).

Des symptômes oculaires variés sont présents dans 36% des cas. L'uvéite antérieure est la plus fréquente et provoque des signes de douleur oculaire, blépharospasme et myosis (parfois associés à des dépôts cornéens, une rétinite et une anisochorie). Cette uvéite peut se manifester par un changement de couleur de l'iris (Hartmann, 2005). On retrouve également des lésions d'hyphéma, d'hypotonie et d'hypopion (dépôts de fibrine dans la chambre antérieure). Les lésions rétinienne sont également très fréquentes et le fond d'œil devra toujours être examiné en cas de suspicion de PIF (Figure 14). Les lésions de chorioretinites, d'hémorragie rétinienne ou de décollement de rétine sont les plus courantes (Gamet, 1999). Ces lésions peuvent également être retrouvées dans les cas de formes humides mais sont beaucoup moins fréquentes que dans les formes sèches.

Figure 14 : Symptômes oculaires observables lors de PIF. A gauche, chat présentant un saignement intraoculaire. A droite, fond d'œil montrant un engorgement des vaisseaux rétiniens (d'après Addie, 2004b)



Lors d'atteinte nerveuse (25% des cas), les lésions sont souvent retrouvées au niveau du système nerveux central (87% des cas). Les nerfs crâniens (trigéminal ou facial principalement) ou périphériques peuvent également être atteints, mais dans seulement 13% des cas. La moelle épinière n'est touchée que dans de rares cas. Les chats sont présentés pour des convulsions, un pica ou des troubles comportementaux. Lors de l'examen neurologique, le praticien met généralement en évidence une ataxie, une hyperesthésie, une hypermétrie, une baisse de la vigilance et de la proprioception, une diminution des réflexes médullaires, une parésie et un nystagmus (Foley *et al.*, 1998). Lors d'atteinte médullaire, l'animal peut présenter une incontinence urinaire, une paralysie et une hyperesthésie spinale. Des cas d'hydrocéphalie secondaire sont observés lorsque les

granulomes inflammatoires forment un obstacle à l'écoulement du liquide cérébro-spinal. L'hydrocéphalie peut être assez suggestive d'une PIF neurologique car dans d'autres maladies comme la cryptococcose, la toxoplasmose ou le lymphome, on ne retrouve pas cette lésion. Timman *et al.* (2008) se sont intéressés aux chats atteints de PIF présentant des crises convulsives. Ce symptôme est retrouvé chez environ 25% des chats souffrant d'une forme neurologique de PIF. Le sexe, l'âge et la race ne semblent pas avoir d'influence sur l'apparition des crises. Les crises généralisées sont les plus fréquentes, des crises focales sont également possibles. Enfin, l'apparition des crises est généralement corrélée à des lésions inflammatoires et à des dommages cérébraux très sévères. Il s'agit donc d'un élément pronostic négatif.

La peau est parfois touchée. Une étude de Cannon *et al.* (2005) décrit un cas de PIF multisystémique. Le chat présentait des nodules cutanés. Ces lésions étaient causées par une infiltration dermique pyogranulomateuse et nécrotique en région vasculaire. L'immunohistologie a permis de mettre en évidence des coronavirus dans les macrophages présents dans ces lésions.

Dans de rares cas, l'appareil respiratoire est touché avec des lésions de pneumonie pyogranulomateuse (Gamet, 1999).

3) Evolution vers une forme sèche ou humide

On a souvent une association des 2 formes cliniques avec à la fois un épanchement et des lésions granulomateuses. Une forme sèche peut également évoluer en forme humide.

Comme nous l'avons vu précédemment, une forte immunité humorale associée à une faible immunité cellulaire oriente l'évolution de la maladie vers une forme humide. En effet, les immuns complexes présents au niveau des endothéliums vasculaires provoquent l'activation de la cascade du complément et de la réaction inflammatoire. Il y a nécrose de l'endothélium et infiltration par des polynucléaires, entraînant une fuite liquidienne vers l'espace intercellulaire. Cependant, en présence d'une réaction cellulaire, même modérée, les macrophages infectés se fixent sur les parois vasculaires et induisent des granulomes périvasculaires, lésions typiques de la forme sèche.

V. Lésions

Les lésions retrouvées sont généralement assez caractéristiques.

A) Forme humide

Quand l'animal développe une forme humide de PIF, les lésions retrouvées à l'autopsie sont des épanchements abdominaux, pleuraux et péricardiques. Le liquide est de couleur caractéristique, jaune citrin et de consistance visqueuse. On observe également des dépôts

de fibrine sur les séreuses, en raison d'une inflammation importante (Poindessault Santa-Croce, 2006).

L'infection des macrophages provoque une vascularite intense et le dépôt des immun-complexes sur les veinules active la cascade du complément, qui augmente la perméabilité vasculaire. Ces phénomènes expliquent la fuite de liquide dans l'espace extracellulaire.

Des lésions pyogranulomateuses sont également retrouvées sur les séreuses et les organes atteints. Ces lésions sont dues à l'envahissement des organes par les macrophages infectés présents dans l'épanchement.

B) Forme sèche

Lors de formes sèches, on ne retrouve que des lésions pyogranulomateuses périvasculaires dans les organes touchés (rein, foie, ganglions mésentériques, séreuses). Il s'agit de lésions milliaires formant de petites zones blanc-grisâtres de quelques millimètres.

Lors d'atteinte nerveuse, on retrouve ce même type de lésion sur les méninges, le plexus choroïde et l'épendyme. Des lésions typiquement inflammatoires, compatibles avec une atteinte virale sont constatées : infiltration périvasculaire par des cellules mononucléées et dégénération des cellules gliales et neuronales (Bradshaw *et al.*, 2004). Une hydrocéphalie est souvent présente (Foley *et al.*, 1998). Les lésions nerveuses sont donc compatibles avec une atteinte virale mais ne sont pas pathognomoniques de la PIF.

Les lésions oculaires sont localisées à la rétine, les méninges du nerf optique et sur le nerf lui-même. Des dépôts de fibrine sur l'iris, les corps ciliaires, la choroïde et la rétine sont retrouvés.

Des prélèvements histopathologiques complètent la nécropsie et permettent de poser le diagnostic de certitude (voir VI. Diagnostic).

VI. Diagnostic

Comme nous l'avons vu précédemment, les symptômes sont très variés, en fonction de la forme clinique et des organes atteints. L'association de critères épidémiologiques et d'éléments symptomatologiques typiques (présence d'épanchements jaunes citrins) peuvent permettre de poser la suspicion. Cependant, celle-ci est nécessairement renforcée par des examens complémentaires et l'élimination des autres causes possibles. On associe souvent plusieurs examens complémentaires pour obtenir de meilleures valeurs prédictives positives.

Le diagnostic de certitude n'est souvent posé que post-mortem grâce à un examen histopathologique des lésions.

A) Diagnostic clinique

Le tableau clinique est très polymorphe et les symptômes orientent généralement vers de nombreuses hypothèses diagnostiques. Le tableau 7 résume les symptômes les plus fréquemment observés. Lorsqu'on a éliminé toutes les causes à l'origine des mêmes symptômes, la suspicion clinique devient très forte. Ceci est, cependant, difficile en raison du vaste panel de diagnostics différentiels possibles.

Tableau 7 : symptômes retrouvés chez 36 chats atteints de PIF (formes sèche et humide confondues) (d'après Cachon et Chuzel, 2005a)

Signes cliniques	Fréquence (en %)
Fièvre	63,3
Apathie	58,1
Amaigrissement	55,9
Déshydratation	41,9
Anémie	37,5
Distension abdominale	36
Ictère	26,5
Anomalies ophtalmologiques	15,4
Dyspnée	11,5
Anomalies neurologiques	10,3
Lymphadénopathie	8,1

B) Diagnostic différentiel

Il est essentiel de bien connaître le diagnostic différentiel de la PIF, en fonction des différents symptômes observés (Tableau 8). En effet, le diagnostic de certitude se fait souvent sur l'histologie post-mortem. C'est donc, en partie, l'élimination des autres causes possibles qui permettra de conforter la suspicion clinique.

Tableau 8 : Diagnostic différentiel de la PIF (d'après Hebert, 2005)

Epanchement abdominal	Hypoalbuminémie (glomérulopathie, maladie hépatique, entéropathie exsudative) Affection hépatique Insuffisance cardiaque droite ou globale Tumeur abdominale Péritonite bactérienne (par perforation d'organes) Pancréatite Traumatisme Coagulopathie
Epanchement pleural	Hypoalbuminémie (glomérulopathie, maladie hépatique, entéropathie exsudative) Insuffisance cardiaque droite ou globale Affection hépatique Pleurésie bactérienne, pyothorax Cryptococcose Tumeur Hernie diaphragmatique Hémithorax Chylothorax
Hyperthermie indéterminée	d'origine FeLV, FIV Toxoplasmose Rickettsiose Mycose Affection suppurative (Abscess, pyomètre, discospondylite, pyélonéphrite) Tumeur Maladie auto-immune
Insuffisance hépatique	Anémie hémolytique Complexe cholangio-hépatite-pancréatite Tumeur Intoxication Obstruction biliaire Toxoplasmose Pancréatite
Insuffisance rénale	Insuffisance rénale chronique idiopathique Intoxication Maladie kystique Pyélonéphrite Tumeur Obstruction des voies urinaires
Lésions oculaires	FeLV, FIV Toxoplasmose Affection du cristallin Rétinopathie hypertensive
Troubles neurologiques	FeLV, FIV Toxoplasmose Encéphalopathies métaboliques Ischémie Néoplasie Méningite Maladie dégénérative du SNC

C) Examens complémentaires

1) Imagerie médicale

a) Radiographie

Elle permet de confirmer la présence d'un épanchement et d'éliminer d'autres hypothèses diagnostiques (hernie diaphragmatique).

b) Echographie

Là encore, l'intérêt est de confirmer la présence d'un épanchement. Une paracentèse échoguidée est plus facilement réalisable. L'échographie permet, d'autre part, d'orienter le diagnostic en éliminant d'autres hypothèses diagnostiques (maladie hépatique ou rénale, pancréatite, tumeurs).

c) IRM

Cette technique est intéressante en cas de forme neurologique de PIF. Elle permet de mettre en évidence une hydrocéphalie, une dilatation des ventricules, une augmentation du contraste péri-ventriculaire (correspondant aux zones inflammatoires) et les lésions de l'épendyme. La sévérité des lésions observées n'est souvent pas corrélée aux signes cliniques (Foley *et al.*, 1998). Elle permet enfin d'exclure d'autres causes de troubles neurologiques, comme les tumeurs intracrâniennes.

2) Analyse du liquide d'épanchement

La présence d'effusion peut avoir des causes très variées. Seuls 50% des chats présentant un épanchement sont atteints par la PIF. A l'inverse, environ 30% des chats ayant une effusion thoracique, 60% des chats avec de l'ascite et 30% des chats avec les deux types d'épanchement ont la PIF (Hartmann, 2005). Une analyse du liquide d'épanchement est généralement très utile pour différencier les chats touchés par le Coronavirus pathogène, des chats atteints par une autre maladie provoquant une effusion. Les tests réalisés sur le liquide d'épanchement ont souvent des valeurs diagnostiques plus élevées que les tests effectués sur le sang.

a) Caractéristiques macroscopiques

Le liquide d'épanchement est jaune, visqueux et coagule à l'air libre. Ces caractéristiques sont liées à sa richesse en protéines. Il est, cependant, possible que l'aspect macroscopique (Figure 15) ne corresponde pas à cet aspect typique. En effet, on retrouve parfois des

épanchements sérohéorragiques ou translucides. On peut en recueillir de 10 mL jusqu'à 1L.

Figure 15 : Aspect macroscopique du liquide d'épanchement de PIF (d'après Cachon et Chuzel, 2005b)



b) Caractéristiques microscopiques

➤ Densité

La densité est supérieure à 1,017.

➤ Protéines

Les concentrations protéiques varient entre 39 et 98 g/L (avec un taux de globuline de 50 à 82%). Une concentration supérieure à 35 g/L dans l'effusion a une sensibilité de 87,1% et une spécificité de 60%. La valeur prédictive positive est de 77,1% et la valeur prédictive négative de 70,5% (Paltrinieri *et al.*, 1999).

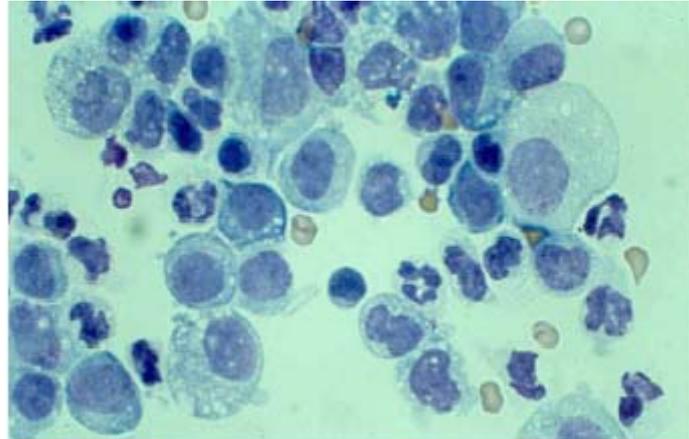
L'hyperglobulinémie est mise en évidence en coloration de May-Grunwald et Giemsa ou Diff-Quick : on observe un fond de lame rose et granuleux. Le dosage de la concentration en γ -globulines et le rapport albumine sur globuline peuvent également être effectués sur le liquide d'épanchement. Ces tests auraient une meilleure valeur prédictive positive effectués sur le liquide d'épanchement que sur le sang (Hartmann *et al.*, 2003). On observe une concentration élevée en γ -globulines et que le rapport albumine sur globuline est faible.

➤ Analyse cytologique

La numération leucocytaire est comprise entre 2000 à 6000 cellules/microL (elle est plus élevée lors d'exsudats septiques). Elle peut, cependant, atteindre 25 000 cellules/microL.

Une analyse cytologique plus poussée permet d'observer de nombreux macrophages et neutrophiles non dégénérés (60 à 80%), des petits lymphocytes, des macrophages et des cellules mésothéliales (Cachon et Chuzel, 2005b) (Figure 16). L'observation microscopique permet d'exclure un lymphome ou un processus septique car on n'observera ni cellule tumorale, ni bactérie.

Figure 16 : Aspect cytologique typique d'un épanchement de PIF (d'après Hartmann, 2005).



➤ Mesure de l'activité enzymatique

La mesure de l'activité de certaines enzymes dans le liquide d'épanchement permet d'orienter le diagnostic vers une PIF. Ainsi, la lactate deshydrogenase (LDH) est souvent élevée (>300 UI/L) car elle est relarguée par les cellules inflammatoires. De même, l'activité de l'alpha-amylase et de l'adénosine désaminase (AD) sont élevées en cas de PIF.

c) *Test de Rivalta*

Le test de Rivalta permet de différencier exsudat et transsudat et a donc été utilisé dans des populations atteintes de PIF. On mélange une goutte d'acide acétique dans 5 mL d'eau distillée et on dépose une goutte d'épanchement en surface. S'il s'agit d'un transsudat, la goutte disparaît. En revanche, s'il s'agit d'un exsudat, la goutte reste visible en surface ou tombe au fond car elle contient une quantité importante de fibrine et de médiateurs de l'inflammation (Cachon et Chuzel, 2005b) (Figure 17). Ce test a été utilisé sur des populations de chats suspects et a montré une valeur prédictive positive de 86% et une valeur prédictive négative de 97% (Hartmann *et al.*, 2003). Le test de Rivalta permet donc de limiter le diagnostic différentiel aux seules causes d'exsudat (Tableau 9). Il existe des faux positifs avec les exsudats septiques bactériens. L'analyse cytologique permettra cependant de limiter les investigations aux causes d'exsudats aseptiques car on n'observera pas de bactérie. De même, les chats atteints de lymphomes présentent souvent un test de Rivalta positif, mais, là encore, la cytologie permettra souvent de faire la différence (Hartmann, 2005).

Figure 17 : Aspect d'un test de Rivalta positif (d'après Hartmann, 2005).



Tableau 9 : Etiologies des exsudats abdominaux et thoraciques, autres que les exsudats de PIF (d'après Hebert, 2005)

Exsudat abdominal	Péritonite septique : - perforation digestive - perforation abdominale - perforation utérine - perforation d'abcès (prostatique) Péritonite chimique : - pancréatite - uropéritoine - rupture de vésicule biliaire Néoplasie (lymphome)
Exsudat thoracique	Pleurésie septique (pyothorax) Nécrose tissulaire (néoplasie)

d) Bilan de l'analyse du liquide d'épanchement

Ces caractéristiques du liquide d'épanchement sont communes à tous les exsudats aseptiques. La spécificité de cette analyse est donc médiocre : elle ne permet pas d'éliminer les autres causes d'exsudats aseptiques. La sensibilité est, au contraire, élevée. Si la suspicion clinique est faible, on pourra donc toujours éliminer l'hypothèse de PIF si les caractéristiques du liquide d'épanchement ne rentrent pas dans ces critères.

3) Analyses sanguines

a) Tests biochimiques sanguins

L'infection par le virus de la PIF provoque différentes modifications biochimiques.

On retrouve en particulier une augmentation des protéines totales avec une valeur supérieure à 78 g/l chez 50% des chats atteints de forme humide et 75% des chats atteints de forme sèche (Le Poder, 2005).

Lors d'atteinte hépatique, une élévation des phosphatases alcalines et des alanines aminotransférases, éventuellement de la bilirubine est généralement observée. Lors d'atteinte rénale, une élévation de l'urée et de la créatinine est possible.

b) Electrophorèse des protéines sanguines

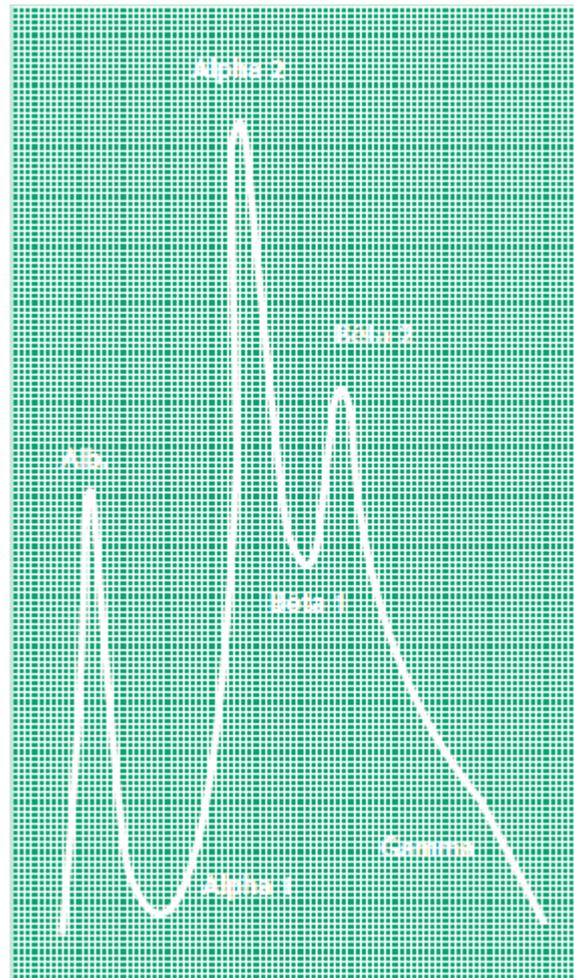
Le profil électrophorétique des protéines sanguines montre une hypoalbuminémie et une hyperglobulinémie. Le rapport albumine sur globuline est donc diminué. Ce critère semble avoir plus d'intérêt diagnostique que la quantité de protéine totale et la concentration en γ -globulines (Hartmann *et al.*, 2003). En prenant comme critère un rapport albumine/globuline inférieur à 0,8, la spécificité est de 82% et la sensibilité de 80% (Hartmann *et al.*, 2003).

Ce sont les fractions alpha2, beta et gamma qui sont particulièrement augmentées. L'augmentation des gammaglobulines traduit une augmentation du taux de fibrinogène.

Dans 75% des formes sèches et 55% des formes humides, on observe une hyperglobulinémie polyclonale avec augmentation des fractions alpha 2, bêta 2 et gamma (Gamet, 1999) (Figure 18).

L'hypergammaglobulinémie retrouvée en cas de PIF n'est pas spécifique. Elle correspond à la stimulation prolongée des lymphocytes B et donc à une synthèse continue d'anticorps. On obtient donc le même tracé dans différentes maladies inflammatoires. Le profil polyclonal permet de différencier la PIF du myélome multiple ou de tumeurs des cellules plasmatiques. Cependant, des profils monoclonaux lors de PIF et polyclonaux lors de myélomes multiples sont parfois obtenus.

Figure 18 : Profil électrophorétique compatible avec une atteinte par la PIF (d'après Cachon et Chuzel, 2005b)



c) Dosages des protéines de la phase inflammatoire aiguë

Lors d'une réponse inflammatoire, certaines protéines plasmatiques (acute phase protein) produites par les hépatocytes subissent une augmentation, qui permet d'orienter le diagnostic. Cette augmentation est observée chez les chats atteints de PIF mais aussi chez les chats exposés au FCoV. Cependant, l'augmentation persiste uniquement chez les chats qui développent la PIF et n'est que transitoire chez les chats asymptomatiques (Giordano *et al.*, 2004).

➤ Alpha1-glycoprotéine (AGP)

Le dosage de l'alpha1-glycoprotéine permet d'orienter le diagnostic. Elle est augmentée en cas de PIF : une valeur supérieure à 1500 microg/L est significative (norme 500 microg/L). Le dosage dans le liquide d'épanchement est également possible (Duthie *et al.*, 1997). Cependant, l'augmentation n'est pas spécifique puisqu'on la retrouve aussi lors d'une autre affection virale (FIV par exemple), d'une atteinte bactérienne, fongique ou lors d'un traumatisme. Elle est, par contre, inchangée en cas d'atteinte hépatique ou tumorale.

Cette augmentation est, par ailleurs, retrouvée chez les chats porteurs du FECV mais reste transitoire et moins importante dans ce cas. Il semblerait que la quantité d'AGP retrouvée dans le plasma est plus élevée dans les chatteries où la prévalence du FCoV est importante (Paltrinieri *et al.*, 2007). Ceci pourrait correspondre à une conséquence, non spécifique, de l'augmentation de la pression virale ou à une réponse protectrice contre le FIPV. Elle pourrait donc être utilisée pour contrôler les animaux dans les chatteries où le FCoV est endémique.

Il semble qu'une variation de la sialylation de l' α 1-acide glycoprotéine serait observée dans les chatteries où le FCoV circule couramment (Paltrinieri *et al.*, 2008). Les variations de sialylation ne semblent pas corrélées à la quantité d'AGP ni au niveau d'excrétion fécale, mais sont observées avant l'apparition d'une PIF clinique au sein de la chatterie. Elles pourraient expliquer que certains chats exposés ne développent jamais de PIF. Il s'agit donc d'un élément intéressant à explorer pour déterminer le rôle de l'AGP dans la résistance ou la sensibilité à la PIF.

En effet, l'AGP pourrait avoir des propriétés protectrices contre le virus par son activité anti-complément, immunomodulatrices et anti-neutrophiles. Elle pourrait également avoir des effets délétères en augmentant la perméabilité capillaire (Addie, 2004a).

Cette molécule présente donc à la fois un intérêt dans le diagnostic, dans la compréhension de la physiopathologie, mais également dans la recherche d'une thérapie contre la maladie.

➤ L'Haptoglobuline

Lors de PIF, on retrouve également une augmentation de l'haptoglobuline, mais insuffisante pour différencier les animaux malades des animaux infectés par le Coronavirus bénin. Cette protéine ne peut donc pas être utilisée pour le diagnostic.

➤ La serum amyloid A (SAA)

La serum amyloid A est augmentée lors de PIF. Giordano *et al.* ont montré en 2004 que les chats malades présentaient une SAA 10 fois plus importante que les chats du lot de contrôle. La SAA pourrait donc, là encore, être un élément intéressant à explorer pour élaborer un test diagnostic (Addie, 2004a).

d) Hémogramme

La maladie provoque également une modification de la numération des différentes lignées sanguines (Rottier, 2005).

On observe chez 50% des chats atteints une anémie normocytaire, normochrome arégénérative modérée. Cette modification est liée à l'inflammation chronique. Dans certains cas, l'anémie est régénérative car il s'agit d'une anémie hémolytique auto-immune

secondaire. Dans ce cas, le test de Coomb est positif (Hartmann, 2005). Chez certains chats, on trouve un nombre élevé de corps de Heinz dans les érythrocytes.

Une leucocytose neutrophilique, une lymphopénie, une éosinopénie et une monocytose sont également retrouvées. En phase terminale de la maladie ou en cas d'évolution suraigüe, une neutropénie peut être observée.

La lymphopénie est liée à l'apoptose de lymphocytes T. Le décompte des lymphocytes (en particulier CD 8+) en cytométrie de flux a donc une importante valeur prédictive négative et permet d'exclure la PIF si la quantité de lymphocyte est normale. Au contraire, la valeur prédictive positive est médiocre car de nombreuses autres maladies provoquent les mêmes modifications, comme les rétroviroses par exemple (Paltrinieri *et al.*, 2003)

Lors de complication de CIVD, une thrombocytopénie est observée.

Les tests effectués sur le sang ont généralement une bonne valeur prédictive négative. Malheureusement, la valeur prédictive positive (VPP) est souvent médiocre. En effet, les meilleures valeurs prédictives positives sont obtenues pour l'hyperglobulinémie (VPP = 61,1%) et un rapport albumine sur globuline diminué (VPP = 53,8%). Pour obtenir de meilleures valeurs, il faut associer les résultats de plusieurs tests. Par exemple, lors d'une lymphopénie, associée à une hyperglobulinémie et à un titre en anticorps supérieur à 160, la valeur prédictive positive est de 88,9% (Sparkes *et al.*, 1994).

4) Analyse du LCR

Lorsqu'un animal présente des symptômes de forme neurologique de la PIF, une analyse du liquide céphalorachidien peut être intéressante. Lors de ponction haute, l'atteinte cérébelleuse gêne l'écoulement du liquide. Il est donc fréquent de ne pas parvenir à obtenir de LCR. Cela peut être un signe évocateur, surtout si l'opérateur est expérimenté (Gamet, 1999).

La concentration protéique est très augmentée dans le LCR, lors de PIF : supérieure à 50 mg/dl et pouvant aller jusqu'à 920 mg/dl (la norme étant inférieure à 25 mg/dl).

La cellularité est également importante, entre 100 et 10 000 cellules/mm³. On retrouve principalement des neutrophiles, lymphocytes et macrophages.

Cependant, cette analyse n'est ni spécifique (d'autres maladies causent les mêmes modifications), ni sensible (certains chats atteints de PIF et présentant des symptômes ont un LCR normal).

D) Diagnostic virologique

1) Recherche d'anticorps anti-Coronavirus

Comme nous l'avons vu précédemment, les biotypes ne sont pas différenciables sérologiquement. Quelle que soit la technique utilisée, elle permettra donc uniquement de détecter des anticorps anti-coronavirus félin. Elle ne permettra en aucun cas de différencier les anticorps induits par le virus de la PIF des anticorps induits par un coronavirus bénin. Les résultats obtenus devront être interprétés en fonction de la suspicion clinique. La sérologie est généralement associée à d'autres examens complémentaires.

a) Les techniques utilisées

Les techniques utilisées sont l'ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay), l'immunofluorescence et l'immunochromatographie.

L'antigène utilisé est le virus de la PIF ou un autre Coronavirus apparenté, le TGEV par exemple (Figure 19). L'utilisation du virus de la PIF ne semble pas apporter plus de spécificité.

Les anticorps commencent à être détectables environ une semaine après l'infection. Leur concentration est maximale après 5 à 6 semaines. Chez les chats qui survivent à l'infection, le titre s'annule au bout de 6 mois environ.

Aucune interprétation sérologique n'est possible avant 12 semaines d'âge car les anticorps d'origine maternelle sont encore présents.

Une vaccination récente peut fausser les résultats et donner de faux positifs (McReynolds et Macy, 1997a).

L'interprétation est difficile car, comme nous l'avons déjà vu, les deux biotypes ne sont pas différenciables sérologiquement.

➤ Tests quantitatifs ou semi-quantitatifs

On utilise l'immunofluorescence. Cette technique détecte essentiellement les anticorps dirigés contre la protéine N.

✓ *Sur sang*

Le titre en anticorps n'est pas corrélé à la quantité de virus.

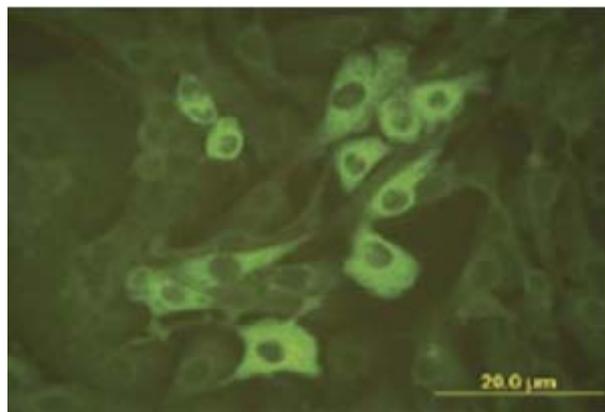
80% des chats développant une PIF (confirmée à la nécropsie) ont un titre en anticorps supérieur à 1/400 (Lutz *et al.*, 1986). Cependant, 40% des chats ayant un titre inférieur à 300

développent une PIF et seulement la moitié des chats avec un titre supérieur à 1000 succombent. De plus, des titres bas peuvent être retrouvés chez des animaux en phase terminale de la maladie. D'autre part, chez les chats présentant un épanchement, les titres sont souvent bas car les anticorps passent dans l'effusion et sont donc présents en moins grande quantité dans le sang. Enfin, dans certains cas, lors d'une infection grave les anticorps sont liés au virus et ne se fixent donc plus à l'antigène du test.

Les résultats des tests sont donc à interpréter avec beaucoup de précaution. Dans une population de chats suspects, la probabilité d'être atteint est forte si le titre est très élevé mais, si ce n'est pas le cas, on ne peut pas conclure. La plupart des chats ayant vécu en collectivité auront un résultat positif puisque les Coronavirus bénins y sont très fréquents. Un titre en anticorps élevé sera donc plus prédictif de la PIF chez un chat vivant seul et présentant des symptômes compatibles.

Dans une étude (Sparkes *et al.*, 1994) réalisée sur 224 chats malades, dont seulement 28 ont développé une PIF (diagnostic post-mortem), la valeur prédictive positive du test sérologique n'était que de 13,8%. Par contre, dans cette même étude, si on associait un titre en anticorps supérieur à 160, une lymphopénie et une hyperglobulinémie, la valeur prédictive positive de la combinaison était de 88,9%.

Figure 19 : Détection des anticorps sériques anti-coronavirus félin par immunofluorescence indirecte sur des cellules de porc infectées par le TGEV (d'après Le Poder, 2005)



✓ *Sur le liquide d'épanchement*

Les titres en anticorps dans le liquide d'épanchement sont corrélés à ceux du sang. En effet, tous les chats testés pour le coronavirus félin sur le sang ont obtenu les mêmes résultats sur le liquide d'épanchement (Soma et Ishii, 2004).

Les résultats sont donc, là encore, à interpréter en fonction des données cliniques.

✓ Sur le LCR

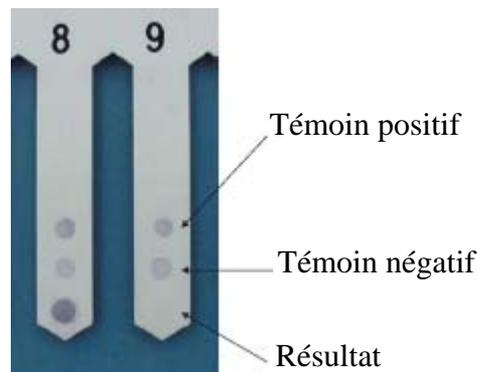
Le titre n'est pas corrélé à celui du sang car les immunoglobulines seraient produites directement dans le cerveau en réponse à la réplication locale du virus (Foley et al., 1998). Dans l'étude de Foley *et al.* (1998), la sérologie sur le LCR est positive pour 15 chats atteints de PIF nerveuse sur 16 et toujours négative chez les chats sains. L'interprétation varie selon les études mais il n'est pas prouvé qu'il existe une relation entre un titre élevé et le développement de la maladie (Hartmann, 2005).

➤ Tests qualitatifs

Il s'agit des tests rapides ELISA (Immunocomb®) ou d'immunochromatographie (speed®PIF). Le test ELISA détecte les anticorps anti-N.

Addie *et al.* (2004 a) ont montré que l'Immunocomb® (Figure 20) avait de bons résultats comparé à l'immunofluorescence. Cependant, ce test ne fait pas la différence entre un titre élevé ou faible. En cas de résultat positif, un dosage quantitatif devra donc être effectué.

Figure 20 : Aspect du test Immunocomb®. Le test 8 est positif, le 9 négatif (d'après Addie *et al.*, 2004 a).



Là encore, le test ne fait aucune différence entre les Coronavirus bénins et les FIPV. Ces tests ne peuvent donc pas être utilisés en routine par le praticien pour diagnostiquer une PIF. Ils permettent éventuellement d'exclure la PIF, lorsque cette maladie fait partie des hypothèses cliniques. Cependant, il existe des faux négatifs (liés au manque de sensibilité du test et au faible nombre d'anticorps circulants lors de formes terminales ou fulgurantes).

b) Interprétation des sérologies en fonction du statut du chat

➤ Animal malade

Comme nous l'avons vu précédemment, la valeur prédictive positive de ce test est très médiocre, aucun résultat positif ne permettra donc de conclure à une PIF avec certitude,

même si le chat présente des symptômes compatibles. Un titre en anticorps élevé sera davantage en faveur d'une PIF qu'un titre faible : les tests quantitatifs présentent donc un intérêt supplémentaire par rapport aux tests qualitatifs. Chaque laboratoire donne une interprétation des résultats en fonction de la technique utilisée.

L'obtention de deux sérologies négatives à 15 jours d'intervalle sur un animal malade permettra, par contre, d'exclure une PIF dans la plupart des cas. En effet, les animaux atteints présentent toujours une sérologie positive sauf dans les premiers jours (temps de séroconversion) et à la toute fin d'évolution de la maladie.

➤ Animal en bonne santé

Chez ces animaux, les résultats des sérologies sont encore moins représentatifs. Un résultat positif ne permettra que de conclure que l'animal a déjà été en contact avec un Coronavirus félin et qu'il est excréteur potentiel. Ceci n'a d'intérêt qu'en collectivité pour écarter les animaux excréteurs. Les tests de dépistage sur des animaux isolés n'ont que peu d'utilité et ne permettent en aucun cas de conclure à une infection par le virus de la PIF.

Une sérologie négative sur un animal en bonne santé permettra, par contre, de le considérer comme indemne, s'il n'a pas eu de contact récent avec un animal infecté. Ceci est intéressant pour introduire un nouvel animal dans une chatterie.

2) RT-PCR

Cette technique peut être utilisée pour détecter le génome viral ou des ARNm viraux.

a) Amplification du génome viral

L'amplification du génome viral est possible sur le sang, le liquide d'épanchement, le liquide céphalorachidien et les fèces (Herrewegh *et al.*, 1995). Une méthode de RT-PCR quantitative est disponible.

Il est important de garder les prélèvements effectués à 4°C car les Coronavirus sont très thermosensibles.

Comme pour les tests sérologiques, il n'est pas possible de différencier les différentes souches de FCoV (Herrewegh *et al.*, 1995). En effet, la différence génétique entre FIPV et FECV est parfois très tenue (une unique base) et il a été démontré que les FECV n'avaient pas une localisation purement digestive, comme on le croyait au départ (Dewerchin *et al.*, 2005 ; Meli *et al.*, 2004). La RT-PCR est, par contre, très sensible. Des quantités de virus infimes peuvent être révélées grâce à cette technique.

La mise en évidence du virus dans le sang montre une infection active. La méthode est plus sensible effectuée sur le plasma que sur le sérum (Gunn-Moore *et al.*, 1998) et le virus est

plus facilement mis en évidence lors d'un pic d'hyperthermie. Il faudra, là encore, s'appuyer sur la suspicion clinique et confronter les résultats de différents tests, puisqu'il est impossible de différencier les biotypes.

La recherche du virus sur le liquide d'épanchement donnerait de très bons résultats. Cependant, cette technique est très sensible et détecterait des quantités infimes de virus, au risque d'obtenir des faux positifs.

Au contraire, la RT-PCR sur le LCR est peut interprétable car la quantité de virus présente est trop faible pour être mis en évidence. Seulement 30% des chats atteints d'une PIF neurologique seraient détectés par cette méthode (Foley *et al.*, 1998).

La RT-PCR est très intéressante en chatterie car elle permet de détecter les animaux excréteurs en effectuant ce test sur les fèces. Lorsqu'on utilise la RT-PCR quantitative, l'intensité de la réaction est corrélée à la quantité de virus présente dans le tube digestif. La RT-PCR quantitative permet d'isoler les animaux fortement excréteurs. Cette méthode permet également de tester les animaux avant leur introduction dans une chatterie (Herrewegh *et al.*, 1995 ; Gunn-Moore *et al.*, 1998). L'excrétion fécale étant irrégulière, il est recommandé de réaliser des prélèvements quotidiens pendant 4-5 jours (voir VIII. Prophylaxie).

b) Amplification de l'ARNm du gène M

Une étude récente (Simon *et al.*, 2005) a décrit une technique d'utilisation de la RT-PCR sur des ARN messagers, après une amplification des ARN m du gène M dans les cellules du sang périphérique. Cette technique a permis de détecter cet ARNm chez 93% des chats atteints de PIF. Seulement 5% de chats indemnes vivant dans une collectivité où circule le Coronavirus ont obtenu un résultat positif.

Ce test est une perspective intéressante pour le diagnostic de la PIF puisqu'il permettrait de différencier PIF et FECV.

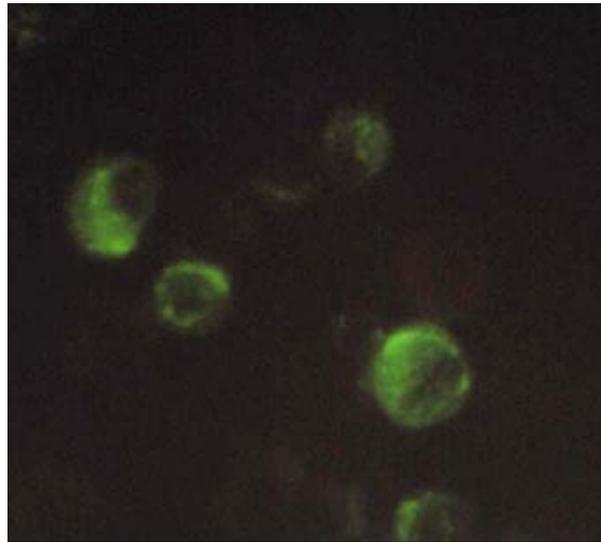
3) Recherche des antigènes par immunofluorescence

a) Dans le liquide d'épanchement

La détection d'antigènes dans le liquide d'épanchement (Figure 21) aurait une très bonne valeur prédictive positive (100%) mais, malheureusement une médiocre valeur prédictive négative (seulement 57%). Ceci s'explique par le fait que le nombre de macrophages infectés dans le liquide d'épanchement est parfois insuffisant (Hartmann, 2005).

Dans une étude de Paltrinieri *et al.* (1999), l'immunofluorescence sur culot de centrifugation présentait une spécificité de 100%, une sensibilité de 94,9%, une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 88,6%.

Figure 21 : Recherche d'antigène par immunofluorescence sur les macrophages (d'après Hartmann, 2005)



b) Dans les tissus

Cette méthode consiste à rechercher des antigènes FCoV dans les macrophages des coupes de tissus, en particulier dans les lésions granulomateuses (Tammer *et al.*, 1995). On utilise pour cela l'immunofluorescence. La spécificité serait de 100% car seuls les FIPV s'y répliqueraient assez pour être mis en évidence.

Lors de forme nerveuses, les lésions observées peuvent être retrouvées dans d'autres maladies infectieuses, immunologiques ou tumorales. L'immunohistologie est alors intéressante pour établir le diagnostic de certitude (Foley *et al.*, 1998).

Cette méthode est donc intéressante quand les lésions histologiques ne peuvent pas être clairement reliées à une PIF. Cependant, là encore, le prélèvement des tissus par biopsie pose problème.

Une méthode d'écouvillonnage de la membrane nictitante puis d'immunofluorescence a été décrite par Hok en 1991. On obtient une spécificité et une sensibilité d'environ 80%, comparée à l'immunofluorescence sur biopsies. Cet outil semble intéressant et permettrait de s'affranchir des inconvénients des biopsies. Cependant, des études ultérieures n'ont pas obtenue d'aussi bonne sensibilité et spécificité avec ce test (Tammer *et al.*, 1995).

E) Histologie

L'histologie, réalisée après prélèvement des lésions à l'autopsie, est malheureusement le seul examen donnant un diagnostic de certitude.

Dans quelques cas, on peut faire une histologie ante-mortem sur biopsie. Il faut alors prendre des précautions car les chats atteints présentent souvent des troubles de la coagulation et les organes sont souvent plus friables, en raison des lésions.

Les organes prélevés sont les organes fréquemment atteints : le foie, le rein, la rate, les séreuses et les ganglions mésentériques.

On retrouve des lésions de vascularite, inflammations pyogranulomateuses nécrosantes avec des macrophages, des neutrophiles, des lymphocytes et des cellules plasmatiques, en particulier sur les nœuds lymphatiques médiastinal crânial et mésentériques (Kipar *et al.*, 2001). Les lésions de vascularite et les pyogranulomes sont pathognomoniques de la maladie.

Lors de forme humide, on retrouve essentiellement une inflammation fibrineuse des séreuses associée à l'accumulation de neutrophiles et de macrophages, présentant, pour certains d'entre eux, une caryorrhexie caractéristique (Lutz *et al.*, 1986).

Les foyers blancs grisâtres décrits dans la forme sèche sont formés de macrophages, de granulocytes, de neutrophiles, de lymphocytes et de cellules plasmatiques entourant un foyer nécrotique central.

Les tissus lymphoïdes montrent généralement une déplétion en cellules B et T, liée à l'apoptose. La quantité de macrophage est augmentée dans la pulpe rouge de la rate (Kipar *et al.*, 2001).

F) Démarche clinique pour le diagnostic de la PIF

1) Comparaison des différents tests disponibles

L'étude de Hartmann *et al.* réalisée en 2003 a été effectuée sur une population de chats suspects de PIF entre 1979 et 2000. Cette étude compare la sensibilité et la spécificité des différents tests disponibles pour un praticien, face à une suspicion clinique de PIF. Les résultats sont résumés dans les tableaux 10 et 11. Cette étude ne présente, malheureusement, pas les résultats de la RT-PCR sur le liquide d'épanchement, qui est pourtant une méthode couramment utilisée.

Tableau 10 : Comparaison des différents tests diagnostics disponibles sur liquide d'épanchement (d'après Hartmann *et al.*, 2003)

	Présence d'anticorps	Test de Rivalta	Présence d'antigènes dans les macrophages
Nombre de chats	193	285	171
Prévalence	0,62	0,57	0,64
Proportion de résultats corrects	0,85	0,90	0,73
Spécificité	0,85	0,80	1,00
Sensibilité	0,86	0,98	0,57
Valeur prédictive positive	0,90	0,86	1,00
Valeur prédictive négative	0,79	0,97	0,57
VPP pour une prévalence de 0,51	0,86	0,84	1,00
VPN pour une prévalence de 0,51	0,85	0,97	0,69

Le test de Rivalta est facile à effectuer en pratique courante et peu coûteux. Il donne de bonnes valeurs prédictives. Il s'agit donc d'un test intéressant pour le praticien.

La détection d'antigènes dans les macrophages permet de confirmer une PIF. Malheureusement, un résultat négatif sera peu interprétable. De plus, ce test n'est pas très accessible pour le praticien.

Tableau 11 : Comparaison des différents tests diagnostics disponibles sur le sérum (d'après Hartmann *et al.*, 2003)

	Présence d'anticorps	Titre en anticorps de 1/1600	Complexes anticorps-antigène	RT-PCR
Nombre de chats	342	342	112	25
Prévalence	0,28	0,28	0,26	0,68
Proportion de résultats corrects	0,65	0,89	0,80	0,64
Spécificité	0,57	0,98	0,91	0,88
Sensibilité	0,85	0,67	0,48	0,53
Valeur prédictive positive	0,44	0,94	0,67	0,90
Valeur prédictive négative	0,90	0,88	0,84	0,47
VPP pour une prévalence de 0,28	0,44	0,94	0,67	0,63
VPN pour une prévalence de 0,28	0,90	0,88	0,82	0,83

Le titrage d'anticorps présente un intérêt pour le diagnostic lorsque l'on obtient un titre élevé. Lorsque les titres sont moyens, le test est peu prédictif.

La RT-PCR est intéressante car sa valeur prédictive positive est bonne.

Le praticien choisira un test ayant une bonne valeur prédictive positive ou une bonne valeur prédictive négative selon sa suspicion clinique et donc selon s'il désire confirmer ou infirmer la présence de la maladie.

Ces tests ne permettent pas d'établir un diagnostic de PIF mais orientent la démarche du praticien vers d'autres investigations.

2) Conduite à tenir

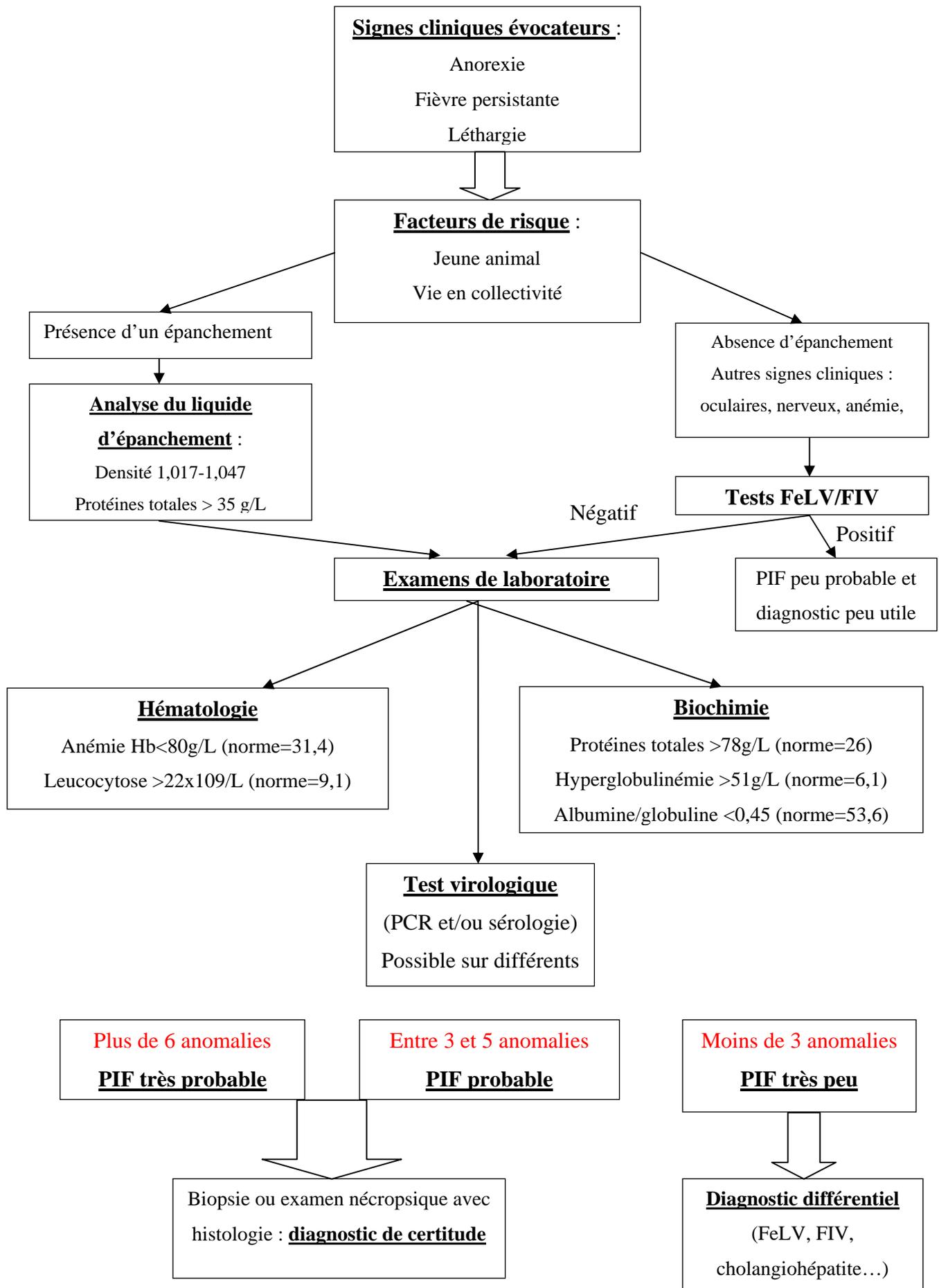
Le praticien se doit d'effectuer un examen clinique rigoureux car les valeurs prédictives des différents tests doivent être confrontées aux observations cliniques. Les valeurs prédictives de chaque test isolé sont souvent faibles mais l'association de plusieurs tests permettra d'étayer le diagnostic.

D'après Addie (2004b), face à une PIF humide, un animal séropositif avec une quantité de protéines totales dans l'épanchement supérieure à 35 g/L, un rapport albumine/globuline inférieur à 0,4, une α 1-glycoprotéine élevée (supérieure à 1500 microg/L) ainsi qu'une cytologie mettant en évidence peu de cellules nucléées, principalement des neutrophiles et macrophages, permet de confirmer une PIF.

Face à une PIF sèche, le praticien devra démontrer que le chat est hyperglobulinémique, avec un rapport albumine sur globuline bas, possède un titre en anticorps élevé. Le chat devra présenter une lymphopénie, un taux d'hématocrite inférieur à 30%, non régénératif et éventuellement une neutrophilie. Une perte de poids et des symptômes oculaires associés à ces modifications sanguines permettront de confirmer la PIF (Addie, 2004b).

Une conduite à tenir face à une suspicion de PIF en pratique courante est proposée dans la figure 22.

Figure 22 : Démarche à suivre pour le diagnostic de la PIF (d'après Nuham, 2007 ; Le Poder, 2005)



VII. Traitement

A) Traitement des chats atteints par le Coronavirus entérique bénin

Il n'existe aucune indication à traiter les chats atteints par un Coronavirus bénin. Le traitement avec des corticostéroïdes augmenterait le risque d'apparition de la mutation, si celle-ci n'a pas encore eu lieu (Hartmann, 2005). L'intérêt de l'IFN- ω a été discuté mais aucune étude n'a prouvé son utilité.

De même, les chats atteints de diarrhées liées à un Coronavirus bénin devront être traités symptomatiquement et aucun traitement immunosuppresseur ne sera mis en place. Cependant, il est souvent très difficile de faire la différence entre une diarrhée bénigne et un début d'infection par le virus de la PIF.

B) Traitement des chats atteints par le virus de la PIF

Actuellement, il n'existe pas encore de traitement permettant de soigner une PIF. L'issue de la maladie reste, à plus ou moins long terme, la mort de l'animal. Tant que les signes cliniques sont modérés, le chat peut vivre quelques mois de manière convenable. Lorsque les signes cliniques s'accroissent, l'espérance de vie est de quelques semaines pour les animaux atteints de forme humide et de quelques mois pour les animaux atteints de forme sèche, avec un confort de vie relativement précaire.

1) Traitements symptomatiques

Il existe, cependant, des traitements permettant d'améliorer le confort de vie. Une ponction régulière du liquide thoracique ou abdominal soulage l'animal. Des traitements symptomatiques peuvent être instaurés pour soutenir les fonctions hépatiques ou rénales, si ces organes sont touchés. Le traitement de soutien comprend également la pose d'une sonde de nutrition et des perfusions sous cutanées ou intraveineuses (McReynolds et Macy, 1997b).

Lors de formes oculaires, on peut proposer une énucléation si l'œil est douloureux ou ajouter un traitement topique (acétate de prednisolone 1%, dexaméthasone phosphate sodique 0,1%) au traitement glucocorticoïde par voie générale.

Enfin, on peut utiliser des vitamines : A (200 UI/jour), B1 (100 μ g/jour), C (125 mg 2x/jour) et E (25-75 UI 2x/jour) et des stéroïdes anabolisants (type Laurabolin®P.A.) 2 à 5 mg/kg tous les 21 jours, pour soutenir l'état général de l'animal.

2) Les immunosuppresseurs

Des traitements plus spécifiques, visant à réduire les conséquences néfastes de la réaction immunitaire sont également possibles. Des traitements anti-inflammatoires et immunosuppresseurs permettent de contrôler la vascularite induite par le complément et évitent la formation de nouvelles lésions.

Les molécules utilisées sont :

- La prednisolone à la dose de 2 à 4 mg/kg/jour avec une diminution progressive de la dose tous les 15 jours, jusqu'à obtenir la dose optimale. La prednisolone présente l'avantage de stimuler l'appétit. Utilisée seule, elle a permis à un chat atteint de PIF sèche de survivre 10 mois,
- La cyclophosphamide à la dose de 2,5 mg/kg/jour 4 jours consécutifs par semaine. Cette molécule a un effet lytique sur les lymphocytes B et agit contre les réactions d'hypersensibilité (McReynolds et Macy, 1997b),
- La thalidomide réduirait la réponse humorale, tout en préservant la réponse immunitaire antivirale. On pourrait l'utiliser dans les premiers stades de la maladie (Addie, 2004a).

Ces traitements immunosuppresseurs sont généralement associés à un traitement antibiotique préventif pour éviter les surinfections.

Ces traitements peuvent provoquer une anorexie ou une myélosuppression et doivent être utilisés avec précaution, en particulier chez les animaux débilisés. Il est préconisé de contrôler les effets toutes les 2 à 4 semaines et d'arrêter le traitement en cas d'effet secondaire. Un hémogramme complet doit être effectué à chaque visite pour s'assurer de l'absence de myélosuppression (McReynolds et Macy, 1997b). En cas de neutropénie, une couverture antibiotique agressive doit être instaurée. En cas de myélosuppression, l'immunosuppresseur est arrêté et réinstauré à 75% de la dose lorsque le problème est résolu.

3) Traitements antiviraux

Pour obtenir de meilleurs résultats, il semble recommandé d'utiliser, en plus du traitement immunosuppresseur, un traitement antiviral. Beaucoup de molécules de cette famille ont des effets secondaires très importants.

a) Traitement antiviral commercialisé

Les interférons sont les plus efficaces et les plus sûres de ces molécules. Dans le cas de la PIF, on utilise l'interféron recombinant félin oméga (IFN Ω) commercialisé par le laboratoire Virbac (Virbagen®).

Le protocole de choix serait donc, dans un premier temps, d'utiliser l'IFN Ω à la dose de 1 MUI/kg (voie sous-cutanée) associé à de la prednisolone à la dose de 2 mg/kg tous les 2 jours (voie orale) ou à une injection intra-thoracique unique de dexaméthasone à 1 mg/kg

suivie du même protocole de prednisolone par voie orale (en cas de symptômes respiratoires).

Après rémission (disparition des épanchements), les mêmes injections sont poursuivies une fois par semaine au même dosage et la dose de prednisolone est diminuée progressivement à 0,5 mg/kg, si cela est possible. Cette association aurait permis de guérir 1/3 d'animaux atteints de PIF humide (rémission supérieure à 2 ans) et 1/3 de rémission partielle (rémission de 2 à 5 mois) (Ishida *et al.*, 2004).

Cependant, les résultats de cette étude sont très controversés, étant donné le faible nombre d'animaux utilisés et l'absence de groupe témoin. De plus, la PIF n'a pas été confirmée systématiquement chez les animaux traités. D'autre part, une étude plus récente n'aurait pas montré de différence significative entre les chats traités avec l'IFN Ω et un groupe traité avec un placebo (Hartmann et Ritz, 2008).

b) Autres protocoles

D'autres substances antivirales ont été testées mais les études portaient sur un petit nombre d'animaux, la PIF n'a généralement pas été confirmée et il n'existait pas de groupe d'animaux témoins. Ainsi, les efficacités du ribavin (analogue des nucléosides viraux), du melphalan (agent alkylant), de la tylosine (antibiotique macrolide) et de la promoduline (immuno-modulateur) ont été étudiées. Aucune de ces études n'apporte de preuve réelle de l'efficacité de ces molécules pour le traitement de la PIF (Hartmann et Ritz, 2008).

Il existerait un effet positif des inhibiteurs de la synthèse de thromboxane, comme l'hydrochloride d'ozagrel (Gamet, 1999). Ce dernier inhibe l'agrégation plaquettaire. Administré à la dose de 5 mg/kg deux fois par jour, il permettrait de diminuer le volume du liquide d'épanchement, de réduire la leucocytose et l'hyperglobulinémie et d'améliorer l'état général de l'animal (Cachon et Chuzel, 2005b). Cependant, cette étude n'a également été menée que sur un petit nombre d'animaux et, là encore, l'atteinte par la PIF n'a pas été confirmée (Hartmann et Ritz, 2008).

Hartmann et Ritz (2008) décrivent une étude menée par Weiss *et al.* en 1990 qui rapporte, par contre, une efficacité significative de l'interféron alpha humain combiné au *Propionibacterium acnes* (un immunomodulateur). Dans cette étude, la PIF a été démontrée et un groupe contrôle est inclus. L'interféron alpha humain est utilisé à la dose de 2×10^4 UI/kg/24h IM pendant 3 semaines lors de formes effusives. Cette molécule stimulerait la réponse immunitaire cellulaire. Pour ces formes humides, l'utilisation de faibles doses n'aurait pas d'effet, probablement car ces chats ont une très mauvaise réponse immunitaire cellulaire. Seule l'utilisation de fortes doses aurait permis de ralentir la progression de la maladie sur des chats infectés expérimentalement. Pour les formes sèches, cette molécule peut permettre une rémission de plusieurs mois grâce à une stimulation de la réponse cellulaire, même à faible dose. McReynolds et Macy (1997b) recommandent une dose de 30 UI/24h PO.

D'autres études sont actuellement en cours. Elles s'intéressent à l'effet sur les coronavirus (en particulier le FIPV et le SARS) des antiviraux actifs contre le HIV, comme les lectines ou

les antibiotiques glycopeptidiques (Keyaerts *et al.*, 2007 ; Balzarini *et al.*, 2006). Cependant, seul l'effet *in vitro* a été étudié pour le moment.

VIII. Prophylaxie

Le traitement de la PIF étant essentiellement palliatif. Les mesures de prophylaxie sont donc essentielles dans la lutte contre la maladie, en particulier en élevage.

A) *Vaccination*

L'élaboration d'un vaccin est très complexe. Il s'agit, en effet, de stimuler la réaction immunitaire cellulaire, sans obtenir de sensibilisation liée à une réaction humorale exacerbée. De plus, les souches pathogènes sont nombreuses et un chat vacciné contre une de ces souches ne le sera pas forcément contre les autres.

1) Les essais de séroimmunisation

Les sérums de chats résistants au FIPV, transmis à d'autres individus n'ont pas permis d'immunisation. Pourtant, une immunisation est possible chez le chaton par les anticorps maternels. Les chatons sont toujours contaminés par la même souche que la mère (et donc les anticorps maternels sont donc spécifiques de cette souche). Ce n'est pas le cas lors d'inoculation expérimentale, ce qui expliquerait l'inefficacité des sérums.

2) Les échecs vaccinaux

De nombreux vaccins ont été élaborés, mais n'ont généralement permis aucune protection, avec parfois même une sensibilisation (Tableau 12), causant une mort plus rapide chez les animaux vaccinés (Scott *et al.*, 1995b). Ce phénomène est appelé « antibody-dependant enhancement » (cf supra). Les anticorps concernés sont ceux dirigés contre la protéine S, qui sont à la fois sensibilisants et neutralisants. Les animaux soumis expérimentalement à de fortes charges virales après vaccination développent une PIF fulgurante rapidement. Ce phénomène n'est pas retrouvé avec des charges virales faibles. Les vaccins vivants homologues, les vaccins inactivés et les vaccins recombinants viraux conduisent à une sensibilisation de l'animal. Un vaccin recombinant utilisant le virus de la vaccine portant le gène de la protéine S n'a conféré aucune immunité à des chatons exposés au virus de la PIF. Ces chatons sont morts rapidement d'une forme sévère et étendue de PIF (Vennema *et al.*, 1990). Les vaccins vivants hétérologues (virus du TGEV, CCoV et HCV 229E) sont inefficaces, malgré l'apparition de titres en anticorps élevés.

Tableau 12 : Résultats des études concernant l'élaboration d'un vaccin (d'après Gonon, 1998)

Type de vaccin	Souches	Auteurs, années	Voie	Protection	Sensibilisation
Vivant homologue	Souches non pathogènes	Pedersen et Black, 1983	oronasale	0%	+
Vivant homologue	UCD1, UCD2, UCD3, UCD4	Pedersen et Black, 1983	oronasale	0%	+
Vivant hétérologue	TGEV	Woods et Pedersen, 1979	intrapéritonéale	0%	0
Vivant hétérologue	CCoV	Stoddart <i>et al.</i> , 1988	aérosol	0%	0
Vaccin recombinant, vaccine	Expression S (TGEV et CCoV)	Chalmers <i>et al.</i> , 1994	Sous-cutanée	0%	+
Vaccin recombinant, vaccine	S de FIPV-79-1146	Vennema <i>et al.</i> , 1990	Sous-cutanée	0%	+
Vaccin recombinant, vaccine	N	Vennema <i>et al.</i> , 1991	Sous-cutanée	0%	0
Vaccin recombinant, vaccine	M	Vennema <i>et al.</i> , 1991	Sous-cutanée	37%	0
Vaccin recombinant, adénovirus	M	Gonin <i>et al.</i> , 1996	Intramusculaire	50%	0
Vaccin anti-idiotype	x	Escobar <i>et al.</i> , 1992	Intrapéritonéale	50%	0
Vivant homologue	Thermosensible FIPV-DF2	Gerber, 1991	Intranasale	40 à 80%	0

Pour éviter le phénomène de sensibilisation, une équipe a essayé de vacciner des chatons avec des vecteurs contenant les plasmides des protéines M et N, et pas de la protéine S connue pour causer ce phénomène (Glansbeek *et al.*, 2002). Malheureusement, ce vaccin n'a conféré aucune protection. De plus, lorsque des plasmides de l'IL-12 (initiateur de la réaction immunitaire cellulaire) ont été injectés parallèlement aux plasmides de protéines virales, des effets secondaires ont été observés.

L'élaboration d'un vaccin contre la PIF pose donc de nombreux problèmes. Outre leur inefficacité, de nombreux vaccins ont des effets délétères liés au phénomène de sensibilisation.

3) Le vaccin actuel

Il existe tout de même un vaccin commercialisé aux Etats-Unis et dans différents pays européens, mais qui n'a pas obtenu d'AMM en France.

Ce vaccin (Primucell FIP®, Pfizer) utilise une souche de Coronavirus mutant thermosensible atténuée par des passages en multiples cultures cellulaires. Ce virus se multiplie à la température des cavités nasales (31°C) mais pas à la température corporelle (38°C).

Il est inoculé par voie intranasale, se développe dans les cavités nasales, ce qui stimule la production d'Ig A dans la salive et dans la lumière intestinale et la production d'Ig G. Les lymphocytes de la région nasopharyngée sont stimulés, colonisent les nœuds lymphatiques, la rate et le sang. Le virus, par contre, ne peut se multiplier dans l'organisme car la

température interne est trop élevée. Il se cantonne donc à la cavité nasale. Ce vaccin a été développé à partir d'une souche de sérotype II (McReynolds et Macy, 1997b).

La primovaccination s'effectue en 2 injections à 3-4 semaines d'intervalle chez les chats de plus de 16 semaines.

Ce vaccin limiterait l'infection par les Coronavirus et limiterait donc l'émergence de la PIF due à des contaminations fréquentes. Lors des études préliminaires, 70 à 85% des chats vaccinés ont survécu à un contact infectant avec une souche virulente homologue au vaccin. Par la suite, les études indépendantes n'ont pas montré une telle efficacité (Scott *et al.*, 1995a). Seuls les chats soumis à de très faibles charges virales ont résisté à une infection par le FIPV. Cette protection n'a pas été retrouvée pour de fortes charges virales et un phénomène de sensibilisation a même été observé. Les souches utilisées, différentes de la souche vaccinale, pourraient expliquer ces résultats. L'efficacité reste donc très controversée avec des résultats très différents selon les études.

L'absence de réplication du virus vaccinal en dehors de la muqueuse oronasale a également été mise en doute. L'innocuité est donc controversée.

De plus, il comporte plusieurs inconvénients dans la lutte contre le FIPV :

- Il ne peut être administré qu'aux chatons de plus de 16 semaines. Or la transmission du virus est possible dès 6 semaines,
- Il provoque une séroconversion, ce qui pose problème, en particulier dans les chatteries régulièrement infectées où on utilise des tests sérologiques pour l'assainissement,
- Il n'est efficace que sur un chat n'ayant jamais été mis en contact avec le virus, ce qui imposerait un contrôle sérologique avant la vaccination (Fehr *et al.*, 1995).

Tout ceci explique que le vaccin n'ait pas d'AMM en France. Dans les pays où le vaccin est commercialisé, le praticien se doit de considérer les avantages et les inconvénients de la vaccination. Une vaccination de routine sur des populations à faible risque n'est pas recommandée.

4) Les perspectives

Des recherches prometteuses sont actuellement en cours pour l'élaboration d'un vaccin (Horzinek, 2004).

Des études utilisant des virus vecteurs, des Spumavirus (German *et al.*, 2004) ou des Baculovirus (Hohdatsu *et al.*, 2003) ont montré des résultats intéressants. Dans cette deuxième étude, les chats vaccinés avec un Baculovirus exprimant la protéine N de la souche de FIPV KU-2, ont été soumis à de fortes doses de FIPV hétérologues. Parmi eux 75% ont survécu contre seulement 12,5% des chats du groupe témoin. Cette nouvelle perspective d'utilisation de la thérapie génique chez le chat pourrait être la solution à l'élaboration d'un vaccin efficace.

Une autre perspective est l'utilisation de virus vivants modifiés pour lesquels certains gènes ont été délétés. Dans une étude de Haijema *et al.* (2004), des virus mutants délétés pour les gènes 3abc ou 7ab ont montré un effet protecteur. Au contraire, le virus délété pour les 2 groupes de gènes n'est pas efficace. Ces virus n'ont pas semblé induire de phénomène de sensibilisation, malgré une stimulation des anticorps anti-S.

B) Prophylaxie sanitaire

1) Statut de l'animal et de l'élevage

Pour les chats ne vivant pas en collectivité, il est recommandé au propriétaire d'attendre un mois après le décès du chat pour réintroduire un nouvel animal. Ceci permet que tous les FCoV disparaissent de l'environnement.

Un certain nombre de mesures particulières doivent être mises en place en collectivité pour éviter toute contamination. En effet, il a été démontré que la propagation du FECV se faisait de manière très importante au sein des élevages (Pedersen *et al.*, 2004). Cet environnement favorise la propagation du virus d'un chat infecté vers un chat indemne (par la promiscuité avec les déjections des congénères en particulier) et amplifie fortement l'excrétion. Dans l'étude de Pedersen *et al.* (2004), les excréteurs seraient passés de 33% à 60% et l'excrétion aurait été multipliée par 10 à 1 million, en seulement une semaine, en plaçant les chats en collectivité. L'idéal est d'éviter totalement la circulation d'un FECV, pour ne pas voir l'émergence de formes de PIF.

Dans une chatterie infectée, l'élimination du virus est toujours difficile. Or, la présence d'excréteurs chroniques de FECV augmente fortement le risque d'émergence de cas de PIF au sein de l'effectif. En effet, plus les animaux se contaminent fréquemment avec des souches bénignes et plus le risque d'apparition d'une mutation, entraînant le développement d'une PIF, est élevé. Il semblerait, d'ailleurs, que plus la fréquence d'excrétion est importante et plus la quantité de virus excrété dans les fèces augmente (Horzinek et Lutz, 2001). Il est donc d'autant plus difficile d'éliminer la maladie que le nombre d'animaux est grand (Addie *et al.*, 2004c).

2) Mesures préventives

a) Mesures générales d'hygiène

Les règles classiques d'hygiène en élevage doivent, bien sûr, être respectées : lavage des mains, pédiluves, nettoyage et désinfection du matériel, principe de la marche en avant.

L'hygiène des litières est un élément primordial. Il est recommandé d'utiliser une litière pour 3 chats maximum et de les entretenir régulièrement. Une hygiène encore plus stricte doit être mise en place dans les chatteries infectées : une litière pour 2 chats maximum avec un

retrait des excréments et un nettoyage quotidien (McReynolds et Macy, 1997b). Les litières sont disposées dans un endroit ventilé et à l'écart de l'alimentation. Les chats sont brossés régulièrement pour éliminer les particules fécales présentes sur le pelage.

b) Introductions et déplacements

L'introduction de nouveaux animaux doit respecter une quarantaine de 2 mois avec 2 contrôles sérologiques négatifs, un à l'entrée de la quarantaine (ce qui permet de faire jouer la garantie des vices rédhibitoires, si le résultat est positif) et un à la sortie (pour s'assurer qu'il n'y a pas eu de séroconversion entre temps). Un chaton doit atteindre l'âge de 12 semaines pour que le test sérologique soit interprétable (en raison de la présence des anticorps maternel et du délai de séroconversion).

De mêmes, les animaux utilisés pour les expositions ou les saillies doivent être ensuite placés en quarantaine et testés. Le risque en exposition est faible si on respecte les mesures d'hygiène. Pour les saillies, on limite le temps de contact si on ne connaît pas le statut du reproducteur.

En chatterie contaminée, il est recommandé, en premier lieu, d'arrêter les expositions et les saillies à l'extérieur de l'élevage. Si cela est impossible, il est nécessaire de prendre garde à ce que les chats aient le moins de contact possible avec leurs congénères lors des sorties et à respecter une quarantaine stricte lors de leur réintroduction dans l'élevage.

c) Reproduction

En chatterie infectée, l'arrêt de la reproduction est également conseillé pour limiter l'effectif de l'élevage. En effet, il est recommandé de ne pas avoir plus de 8 à 10 reproducteurs pour pouvoir lutter efficacement contre l'infection (McReynolds et Macy, 1997b). De plus, les chatons infectés sont très fortement excréteurs.

Si la reproduction est poursuivie, un sevrage précoce est conseillé. En effet, le chaton se contamine majoritairement par la mère (ou un autre adulte) à partir de 6 semaines, lorsque le taux d'anticorps maternel n'est plus assez élevé pour assurer une protection efficace. Un sevrage précoce vers 4-5 semaines permettrait donc de limiter le risque de contamination des chatons. L'idéal serait même d'isoler les chatons de tous les adultes potentiellement excréteurs (Addie et Jarrett, 1992). Le sevrage précoce permet de contrôler la PIF, mais également le calicivirus, l'herpesvirus, *Bordetella bronchiseptica*, *Microsporium* spp. et de nombreuses autres infections. Cette mesure pose, cependant, des problèmes de socialisation des chatons et ne doit donc pas être effectuée en routine, mais seulement dans les effectifs contaminés. De plus, la mise en place du sevrage précoce nécessite des locaux adaptés et entraîne un surcroît de travail pour l'éleveur.

d) Contrôle des animaux

Des contrôles sérologiques réguliers peuvent être effectués pour suivre le statut de l'élevage. Les animaux ayant des titres très bas (inférieurs à 1/25) excrètent généralement peu de virus alors que les animaux avec des titres supérieurs à 1/400 sont souvent excréteurs (Addie *et al.*, 2004c). Si de nombreux animaux sont positifs mais que les titres sont bas, les méthodes d'élevage sont probablement correctes et les pertes liées à la PIF seront relativement faibles. Par contre, si le titre en anticorps est élevé, il y a probablement des mesures sanitaires importantes à prendre et des pertes liées à la PIF sont à redouter. Après la mise en place de ces mesures, la poursuite régulière des contrôles sérologiques permet de suivre le statut des animaux (la plupart des animaux éliminent les Coronavirus entériques bénins et retrouvent un statut indemne).

La mesure la plus intéressante est de réaliser des contrôles PCR sur les matières fécales, pour établir le statut de chaque animal :

- Les non excréteurs sont des animaux dont les sérologies sont négatives ou dont les RT-PCR ont été négatives 5 mois de suite (et qui était isolé des excréteurs) (Addie et Jarrett, 2001),
- Les excréteurs permanents ou chroniques ont des RT-PCR positives 8 mois de suite ou présentent des charges virales élevées sur 2 RT-PCR quantitatives,
- Les excréteurs transitoires sont des chats qui excrètent le virus puis retrouvent un statut indemne. Leur sérologie et leur RT-PCR sur fèces sont donc positives puis deviennent négatives.

Il est important de détecter les animaux fortement excréteurs ou excréteurs permanents, en les plaçant chez des particuliers par exemple. En effet, ce sont ces individus qui présentent un risque de contamination orofécale pour le reste de l'effectif.

Les animaux sont séparés en fonction de la positivité de leur sérologie, ou mieux de leur degré d'excrétion dans les fèces (Hickman *et al.*, 1995). Des réallottements sont effectués pour obtenir qu'un maximum de chats retrouve un niveau d'excrétion négatif dans les fèces. Les groupes sont composés de 3 ou 4 individus. Les excréteurs chroniques sont écartés de l'élevage. Des contrôles réguliers sont ensuite effectués sur les différents lots, en particulier le lot des animaux fortement excréteurs. L'idéal serait de réaliser un prélèvement par chat et par mois pendant 8 mois. Cependant, le prix d'une RT-PCR étant d'environ 40 euros, ceci est rarement réalisé en pratique.

Ces mesures sont très lourdes, aussi bien sur le plan de l'investissement personnel que sur le plan financier (Hickman *et al.*, 1995). De plus, même après élimination du virus au sein de la chatterie, une recontamination très rapide a été observée dans certains élevages. De nombreux éleveurs ont arrêté leur activité après avoir été confrontés à des cas de PIF.

Ces précautions ne sont pas applicables dans les refuges et l'adoptant doit être informé du risque de PIF.

IX. Pronostic

Comme nous l'avons vu précédemment, le pronostic de cette maladie est sombre. La mort de l'animal est inéluctable, en un temps plus ou moins long (de quelques jours chez le chaton à plusieurs semaines chez les chats plus âgés). La mort survient rapidement lorsque l'animal commence à être débilité par la maladie, en particulier dans les formes humides. Le traitement ne permet que de prolonger la vie de l'animal, dans des conditions relativement correctes.

X. Aspect legal

La PIF est inscrite sur la liste des vices rédhibitoires du Code Rural. Un seul test positif vis-à-vis des Coronavirus suffit à faire valoir les droits de l'acheteur et à entraîner l'annulation de la vente (loi du 22 juin 1989, arrêté du 2 août 1990-article 285 du code rural).

Le délai entre la vente et le diagnostic de suspicion est de 21 jours (décret n° 90-572 du 28 juin 1990) et celui entre la livraison et la plainte au tribunal est de 30 jours. Le diagnostic clinique prime sur la sérologie. Les critères de suspicion sont : une hyperthermie persistante, un épanchement péritonéal, un épanchement pleural, une uvéite, des symptômes nerveux et/ou des anticorps neutralisants dans le sang ou les liquides d'épanchement (arrêté du 2 août 1990).

Si aucun accord amiable n'est possible, l'acheteur pourra assigner le vendeur auprès du tribunal d'instance. La vente pourra être annulée : l'animal est alors repris par le vendeur et son prix est remboursé. Le vendeur n'a pas à rembourser les frais engagés pour le diagnostic et les soins.

Cette loi pose deux problèmes principaux (Vaudois Thiesset, 2005) :

- La période d'incubation naturelle de la PIF n'est pas bien connue, elle semblerait varier de un mois à plus d'un an. Le délai de 3 semaines retenu par la loi correspond à la période d'incubation expérimentale, et n'a donc pas de valeur pratique. Dans les conditions naturelles, il semble très probable que l'incubation soit toujours supérieure à 3 semaines. Le vendeur a donc peu de chance d'être pénalisé à tort, puisque la contamination est toujours antérieure à la vente, si la maladie est découverte dans le délai des 21 jours. Au contraire, l'acheteur est souvent pénalisé car le vice pourra se révéler jusqu'à un an après la vente,
- Le critère de suspicion correspondant à la présence d'anticorps neutralisants dans le sang ou les liquides biologiques est à prendre avec précaution. En effet, le vice rédhibitoire de la loi est la maladie PIF et non l'infection par un Coronavirus félin. Le dépôt d'une requête auprès du tribunal ne devra donc pas s'en tenir à ce seul critère, mais devra être associé à un ou plusieurs critères cliniques. L'action ne peut aboutir si l'animal n'est pas malade. En pratique, l'application de la loi dans ce cas pose souvent problème. Le praticien qui émet une suspicion se doit d'effectuer une confrontation raisonnée des informations épidémiologiques, cliniques et biologiques.

XI. Conclusion

L'émergence du virus du SARS a fait craindre la possibilité de franchissement de la barrière d'espèce par les autres Coronavirus, en particulier par les FCoV. Il n'y a, pour le moment, aucune indication que les humains puissent être infectés par ce virus (Hartmann, 2005).

Malgré les nombreuses études menées, en particulier depuis l'émergence du virus du SARS, de nombreux points sont encore à éclaircir dans la physiopathogénie des FCoV. D'autre part, le diagnostic reste encore difficile pour le vétérinaire en pratique courante et les traitements possibles sont extrêmement réduits et apportent peu d'espérance de survie pour l'animal. Enfin, le développement de vaccin s'est soldé par de nombreux échecs et aucun vaccin n'est actuellement disponible en France, bien qu'il existe des perspectives intéressantes. Cependant, la PIF est une maladie mieux connue des praticiens et de plus en plus diagnostiquée, grâce aux avancées des études virologiques.

TROISIEME PARTIE :
LES CORONAVIROSES DU CHIEN

L'existence d'un Coronavirus pouvant infecter le chien a été suspectée dès 1971, après une épidémie de gastro-entérite en Allemagne. En 1974, Binn et son équipe (d'après Decaro et Buonavoglia, 2008) isolent le virus responsable et démontrent son appartenance à la famille des *Coronaviridae*.

Généralement non pathogène, le Coronavirus canin a été relativement peu étudié et reste assez méconnu du praticien. Récemment, l'évolution génétique rapide des Coronavirus et la peur d'apparition de nouveaux virus pathogènes pour l'homme ont conduit à un regain d'intérêt. Les études ont montré l'existence de deux génotypes distincts de CCoV à tropisme digestif et l'émergence de souches de Coronavirus canin entéritique virulentes. De plus, un autre Coronavirus canin à tropisme respiratoire, appartenant au groupe 2, a été découvert.

I. Le Coronavirus canin classique à tropisme entéritique

A) Classification

Le Coronavirus canin entéritique est un coronavirus du groupe 1.

Les premières souches de Coronavirus canin décrites sont des souches à tropisme entéritique assez peu pathogènes. Il s'agit des souches 1-71, K-378, C-54 et INSAV C-1. Depuis, le virus a connu des évolutions et deux génotypes différents ont été mis en évidence.

En effet, l'analyse d'un variant du CCoV détecté sur des chiots en Italie a permis de constater que de nombreuses mutations ponctuelles affectaient un fragment du gène codant pour la protéine M (Pratelli *et al.*, 2001).

Une seconde étude a été menée par Pratelli *et al.* (2002a) sur deux chiots excréant un Coronavirus canin. L'analyse du gène M a permis de montrer que le virus excrété par ces deux chiots était génétiquement proche des souches classiques, au début de l'infection (95% d'homologie avec la souche Insavc). A partir du 40e jour environ, le virus divergeait de la souche initialement isolée, en raison de nombreuses mutations ponctuelles (seulement 86 à 88% d'homologie avec la souche Insavc). Cette observation laissait supposer soit une capacité de mutation extrêmement rapide du Coronavirus pour échapper à la pression du système immunitaire, soit la possibilité d'une infection mixte par deux souches génétiquement différentes de Coronavirus chez le chien.

Par la suite, l'analyse de différentes régions du génome viral d'isolats de CCoV a permis de conclure à l'existence de deux génotypes différents de Coronavirus canin (Pratelli *et al.*, 2003a). L'un comprend les souches classiques (Insavc-1 et K378) alors que l'autre génotype, appelé FCoV-like, diverge du CCoV classique et présente de nombreuses séquences communes avec le FCoV type I.

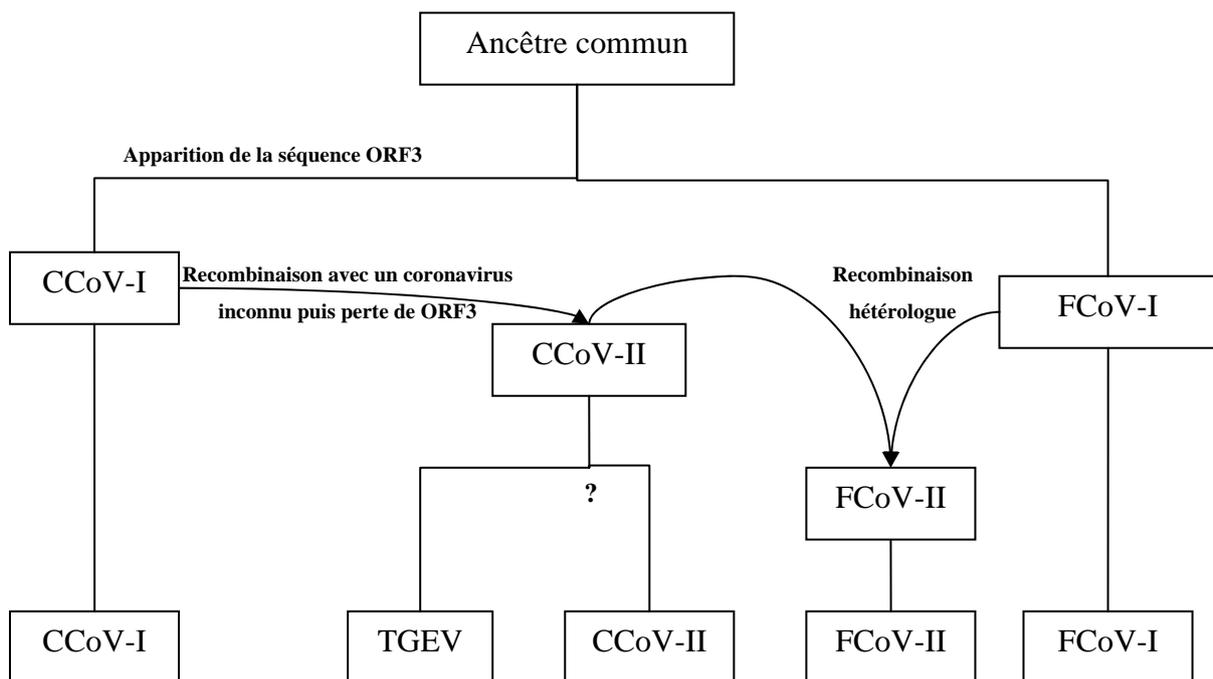
En effet, une analyse phylogénétique du gène S de la souche FCoV-like Elmo/02 a démontré qu'elle présentait 81% d'homologie avec le FCoV type I et seulement 54% d'homologie avec les souches de CCoV classiques et avec le FCoV type II. Cette souche a donc été classée comme appartenant au CCoV génotype I alors que les souches classiques ont été classées dans le CCoV génotype II (Pratelli *et al.*, 2003b).

Le CCoV génotype I diverge également du génotype II dans la séquence du gène S. Un site de clivage de la protéine S, comme les Coronavirus du groupe 2 et 3, et une séquence ORF supplémentaire de 624 nucléotides, qui n'est retrouvée chez aucun Coronavirus du groupe 1, est présente pour ce génotype (Decaro et Buonavoglia, 2008). Il semblerait que l'évolution vers le génotype I se serait faite de manière linéaire et non à l'occasion d'une recombinaison hétérologue, comme cela a été le cas pour le FCoV type II (Pratelli *et al.*, 2003b)(Figure 23).

L'étude des génotypes viraux impliqués dans la population canine italienne a permis de constater que les infections mixtes par les deux génotypes étaient assez fréquentes.

La présence des deux génotypes a été confirmée dans différents pays, en particulier en Autriche (Benetka *et al.*, 2006).

Figure 23 : Scénario hypothétique de l'évolution des coronavirus du groupe 1 à partir d'un ancêtre commun (d'après Lorusso *et al.*, 2008).



B) Epidémiologie

1) Descriptive

a) Répartition

Le Coronavirus canin est relativement spécifique d'espèce et n'infecte que les canidés. Il a été décrit chez le chien, le renard et le coyote (Hudelet, 1998).

Il est relativement cosmopolite et a été décrit aux Etats-Unis, au Canada, en Nouvelle-Zélande, en Thaïlande, en Malaisie, en Australie et dans différents pays d'Europe (Pratelli, 2005).

b) Prévalence

Les infections par le Coronavirus canin sont sous-diagnostiquées. En effet, il s'agit de gastro-entérites bénignes, qui guérissent généralement avec le traitement symptomatique. Les études de prévalence montrent que cette maladie est plus fréquente chez les animaux vivant en collectivité, que chez les animaux vivant chez des particuliers. Les valeurs de prévalence obtenues varient beaucoup en fonction des études et des pays (de 0 à 80%). Une étude a montré qu'elle était de 45% chez les chiens tout venant et de 61% chez les chiens présentant de la diarrhée (Pratelli, 2005). En France, elle serait comprise entre 15% et 20% chez les chiens isolés. 40% à 80% des chiens d'élevage seraient touchés (Thiry, 2002).

L'utilisation de la RT-PCR quantitative différenciant les deux génotypes a permis de déterminer la prévalence de chacun d'entre eux dans l'infection. Une étude réalisée en 2003 par l'équipe de Pratelli, sur 174 chiens naturellement infectés, a permis d'établir que le CCoV génotype I était retrouvé dans 45% des cas, le CCoV génotype II dans 26% et les deux génotypes dans 22% des cas.

c) Facteurs de risque

La maladie serait plus fréquente en hiver car le CCoV résiste au froid et est sensible à la chaleur. En effet, après 30 minutes d'exposition à +56°C, le pouvoir infectieux du virus est grandement réduit. A 65°C, il suffit de 5 minutes pour réduire le pouvoir pathogène et le virus est totalement inactivé après 40 minutes. Le virus peut, au contraire, survivre plusieurs années à -65°C (Pratelli, 2008).

Il ne semble pas y avoir de prédisposition liée au sexe ou à la race.

Les chiens de tout âge sont sensibles à l'infection. Cependant, les chiots présentent plus fréquemment des affections symptomatiques que les adultes, sans doute en raison de la perte de protection colostrale (Thiry, 2002).

Les chiens vivant en collectivité sont plus touchés car le virus est très contagieux et diffuse facilement parmi les animaux vivant en contact étroit.

Des conditions d'hygiène médiocres et un environnement stressant favorisent l'expansion de la maladie et l'apparition de signes cliniques.

2) Analytique

Les sources sont les animaux contaminés. Ceux-ci peuvent présenter des signes cliniques ou être totalement asymptomatiques. Les adultes peuvent excréter le virus dans les selles pendant plusieurs semaines sans présenter de trouble particulier.

L'excrétion commence environ 3 jours après l'infection et dure jusqu'à environ 15 jours après. Cependant, il a été démontré que certains chiots excrétaient encore le virus 6 mois après la guérison (Pratelli, 2005).

La contamination est essentiellement oro-fécale. Elle se fait donc par ingestion du virus, suite au contact avec un animal infecté ou indirectement par contact avec du matériel ou des aliments souillés par des fèces.

C) Pathogénie

1) Infection virale

Le Coronavirus canin pénètre dans l'organisme par ingestion. Il résiste au passage dans l'estomac, grâce aux capacités de résistances des Coronavirus aux pH acides et atteint le duodénum environ 2 jours après l'ingestion. Il infecte alors les entérocytes par pinocytose, au niveau des microvillosités. Seuls les entérocytes (localisés dans les 2/3 supérieurs de la muqueuse) sont contaminés, les cellules des cryptes ne sont jamais touchées. Il se propage à tout l'intestin grêle (Green, 1989). Les lésions restent localisées à cette portion du tube digestif, le colon n'est jamais atteint. On n'observe pas de virémie, ni d'infection généralisée (Pratelli, 2005). De petites quantités de virus peuvent, par contre, être retrouvées dans les nœuds lymphatiques mésentériques, la rate et le foie.

Les symptômes sont liés à la destruction des entérocytes, lors de la libération des nouveaux virions. Une desquamation de l'épithélium intestinal et une abrasion des villosités sont alors observées. La gravité des symptômes dépend de la surface atteinte. Une étude menée par Ruggieri *et al.* (2007) a montrée que le Coronavirus canin induisait l'apoptose des cellules épithéliales de la muqueuse intestinale. En effet, l'étude des effets cytopathogènes du CCoV sur des cellules de fibrosarcome canin A-72 a montré des signes typiques d'apoptose de ces

cellules : modifications morphologiques membranaires et nucléaires, activation de caspases. Ces éléments expliquent la destruction des entérocytes lors d'infection par le CCoV.

La destruction des entérocytes provoque un syndrome de malabsorption, un déficit en enzymes digestives et une fuite hydrique qui entraînent une diarrhée aqueuse, 18 à 72 heures après l'infection (Pratelli, 2005).

La production locale d'anticorps suffit à juguler rapidement l'infection. Les cellules des cryptes, qui ne sont pas touchées par le virus, migrent vers le sommet des villosités et remplacent les cellules détruites. Les villosités sont donc restaurées, environ 7 jours après l'infection de l'intestin grêle.

2) Immunogénicité

Les anticorps induits par la présence du virus sont neutralisants. Il n'y a pas d'anticorps hémagglutinants car le CCoV ne possède pas de protéine hémagglutinante (contrairement aux Coronavirus du groupe 2). Ceci explique que la recherche d'anticorps par la technique d'hémagglutination passive conduise à des résultats négatifs (Jurin, 1999).

Les anticorps apparaissent 10 jours après l'inoculation expérimentale et augmentent jusqu'au 14e jour, où ils atteignent un plateau. La durée de l'immunité induite par l'infection par le Coronavirus est mal connue. Elle serait de 8 à 12 mois. L'immunité est maximale au pic d'IgG et d'IgM plasmatique mais ne protège pas totalement l'animal. Les sécrétions d'IgM sont observées à partir du 3e jour post-infection et jusqu'au 11e jour puis ce sont les IgG qui augmentent du 7e au 14e jour. On peut observer des manifestations cliniques chez des chiens possédant des titres en anticorps élevés (Jurin, 1999).

Lors de l'exposition au virus, une immunité locale se développe également. Au niveau du tube digestif, des IgA, qui apparaissent parallèlement aux IgG (entre le 7e et le 14e jour), protègent l'animal contre les réinfections (Pratelli, 2006). Cette immunité locale jouerait un rôle essentiel dans la protection contre le virus.

La persistance de l'immunité (qu'il s'agisse des anticorps neutralisants plasmatiques ou de l'immunité locale) est limitée dans le temps et seuls des contacts fréquents avec le virus entretiennent cette immunité.

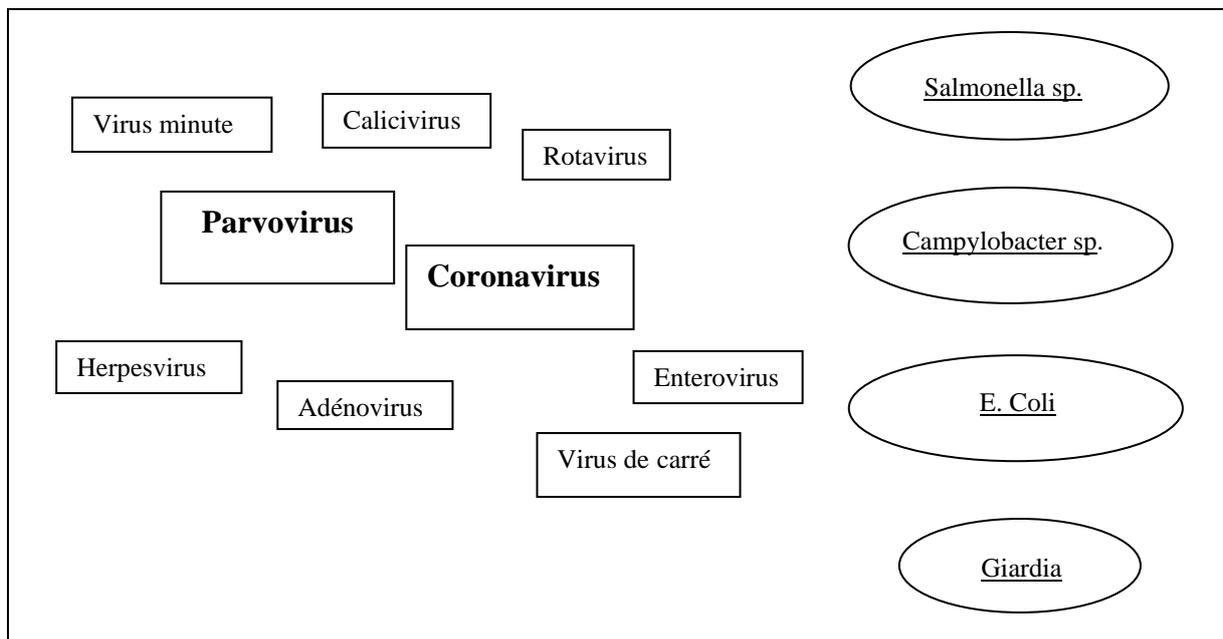
Les chiots dont les mères possèdent des anticorps anti-CCoV sont protégés les premières semaines par les anticorps maternels absorbés dans le colostrum. Le titre de ces anticorps devient négatif en 3 à 5 semaines (Pratelli, 2005).

3) Déterminisme du pouvoir pathogène

La présence du virus ne suffit souvent pas à provoquer de la diarrhée. Celle-ci apparaît quand le milieu digestif est déjà perturbé en raison d'un stress, d'un changement alimentaire, d'interactions microbiennes (Figure 24) ou d'un déficit immunitaire.

L'infection mixte à Coronavirus et Parvovirus est fréquente. Ces infections sont préoccupantes car les deux types de virus ont un pouvoir synergique. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, le Coronavirus détruit des cellules du sommet des villosités alors que le Parvovirus infecte les cellules en division, donc les cellules de Lieberkühn situées entre les villosités. Lors d'infection mixte, toute la surface de la villosité est donc détruite et les pertes hydriques sont majeures. La mortalité est donc beaucoup plus fréquente lors de ces infections mixtes.

Figure 24 : Les différents micro-organismes intervenant dans le complexe de l'entérite canine (d'après Evermann *et al.*, 1989).



Les chiots sont plus sensibles en raison de leur médiocre immunité locale par rapport aux adultes. De plus, chez les nouveau-nés, la barrière digestive laisse diffuser passivement les macromolécules, ce qui facilite la pénétration du virus.

D) Symptômes

Les symptômes sont très variables. L'infection peut être totalement asymptomatique. Les animaux présentent généralement une gastro-entérite bénigne. Dans de rares cas, la gastro-entérite peut être mortelle.

Les signes cliniques sont généralement de l'anorexie, un abattement, une déshydratation, des vomissements et de la diarrhée. Les fèces sont molles, muqueuses ou très liquides. Elles ont une odeur nauséabonde, une couleur jaune-vert ou orange et contiennent parfois des traces de sang (Green, 1989). La présence d'une diarrhée hémorragique est relativement rare. Les vomissements sont retrouvés essentiellement le premier jour, le chien ne présente

ensuite que de la diarrhée, qui peut persister 3 à 4 semaines. L'hyperthermie et la leucopénie sont assez rares.

E) Lésions

Macroscopiquement, les anses intestinales paraissent dilatées, congestionnées et remplies de fèces. La muqueuse peut également être congestionnée et hémorragique par endroit. Les nœuds lymphatiques mésentériques sont parfois hypertrophiés et oedématisés. Ces lésions sont relativement peu caractéristiques et sont retrouvées dans la plupart des affections digestives.

Les lésions microscopiques sont retrouvées essentiellement sur la muqueuse intestinale. On observe une atrophie et une fusion des villosités, un creusement des cryptes et un aplatissement des cellules épithéliales, remplacées par des cellules cuboïdes, immatures. La *lamina propria* est épaissie. Ces lésions sont plus caractéristiques d'une infection par le Coronavirus entérique (Green, 1989).

F) Diagnostic

1) Diagnostic clinique

Le diagnostic est impossible à partir des seules données cliniques. Le temps d'incubation est bref, la contagiosité importante et les chiots de 6 à 9 semaines sont plus sensibles. En élevage, on observe une forte morbidité mais une faible mortalité, contrairement à l'infection par le CPV-2. La présence d'une gastro-entérite aiguë mais modérée, contagieuse peut donc orienter le diagnostic vers une coronavirose.

2) Diagnostic différentiel

Il est essentiel d'éliminer les autres causes d'entérite, en particulier les entérites provoquées par d'autres agents infectieux (Tableau 13).

Tableau 13 : Etiologie des diarrhées aiguës chez le chien (d'après Hebert, 2005)

Origine alimentaire	Changement de régime alimentaire Aliment impropre Intolérance alimentaire
Origine infectieuse	<u>Virus</u> : Parvovirus-2 canin Rotavirus Adénovirus <u>Bactéries</u> : Campylobacter Salmonella Yersinia pseudotuberculosis ou enterocolitica Escherichia coli Clostridium perfringens Enterococcus durans <u>Protozoaires</u> : Isospora Cryptosporidium Giardia <u>Champignons/Algues</u> : Aspergillus Candida Histoplasma capsulatum
Toxique et médicaments	AINS et corticoïdes Antibiotiques Antimitotiques Métaux lourds Organophosphorés
Iléus fonctionnel ou mécanique	Corps étranger Tumeur digestive
Affections extradigestives	Insuffisance hépatique aigue Insuffisance rénale aigue Hypocorticisme Pancréatite aigue

3) Diagnostic de laboratoire

On ne note pas de modification biochimique ou hématologique particulière en cas d'infection par le CCoV. La leucopénie est relativement rare, contrairement à ce que l'on observe lors d'infection par le CPV-2.

La mise en évidence du virus est possible par différentes méthodes de laboratoire. Cependant, il faut interpréter les résultats avec précaution. En effet, les coronaviroses

canines étant fréquentes et souvent asymptomatiques, le fait de trouver un CCoV dans les selles ne signifie pas forcément que le virus est responsable de l'infection.

a) Microscopie électronique

Le Coronavirus canin peut être mis en évidence par examen direct en microscopie électronique. Cet examen s'effectue sur les matières fécales en coloration négative. Un résultat positif est fiable si de grandes quantités de virus sont observées. Des artéfacts (particules Coronavirus-like) peuvent être confondus avec la particule virale (Evermann *et al.*, 1989). La valeur prédictive négative est relativement médiocre car le virus n'est pas forcément retrouvé dans une petite quantité de selles.

Pour améliorer la sensibilité et la spécificité du test, il existe des techniques de neutralisation du virus par des sérums anti-Coronavirus. La formation des complexes immuns facilite la visualisation des particules virales au microscope. Cependant, cette technique n'est disponible que dans quelques laboratoires spécialisés.

b) Sérologie

On utilise plusieurs méthodes : l'ELISA, la séroneutralisation et l'immunofluorescence indirecte.

La séroneutralisation est assez sensible et spécifique. Elle est, cependant, peu disponible et les résultats ne sont obtenus que 6 jours après le prélèvement.

Le test ELISA est également sensible. Le délai n'est que de 48h. De plus, un nouveau test ELISA, développé récemment, serait plus sensible que la séroneutralisation (Pratelli, 2006). La découverte du CCoV type I dans la population canine a également entraîné le développement de tests visant à détecter ce nouveau sérotype. Un système procaryote exprimant deux polypeptides de la protéine S du CCoV type I a été utilisé pour développer une technique ELISA.

L'immunofluorescence indirecte est rapide mais les résultats sont beaucoup moins fiables que pour les tests précédents car la sensibilité est médiocre (Hudelet, 1998).

Les tests sérologiques permettent de voir si l'animal a été en contact avec le virus. Les immunoglobulines M apparaissent 3 à 5 jours après l'infection par le CCoV. Les anticorps neutralisants sont détectables 10 à 14 jours et le titre est maximal dans les 25 à 60 jours après contamination. Deux sérologies sont donc nécessaires pour diagnostiquer une infection active. Le deuxième prélèvement est effectué 2 à 6 semaines après le premier et doit mettre en évidence un titre en anticorps plus élevé (multiplié par 4 environ) pour permettre de poser le diagnostic (Hudelet, 1998).

L'interprétation du test doit, cependant, prendre en compte la possibilité de réaction croisée avec les autres Coronavirus (en particulier les FIPV et TGEV).

c) RT-PCR

Des méthodes de RT-PCR sur les fèces sont disponibles pour détecter le Coronavirus canin entérique. Il s'agit désormais du test de choix pour le mettre en évidence. En effet, la RT-PCR est plus spécifique et sensible que les méthodes utilisées auparavant. Elle utilise l'amplification d'un segment du gène codant pour la protéine M du CCoV. Elle est rapide et permet de détecter de petites quantités de virus.

Récemment, une RT-PCR quantitative a été développée (Decaro *et al.*, 2004). Elle est plus sensible que la RT-PCR classique (permet de détecter le virus à partir de 10 copies d'ARN présentes). De plus, elle est simple et reproductible.

Le développement de RT-PCR spécifiques du génotype permet de distinguer les CCoV génotype I et génotype II (Pratelli *et al.*, 2002b). Cette méthode est très spécifique et il ne semble pas y avoir de réaction croisée avec les FCoV et le TGEV. Une RT-PCR quantitative permettant de distinguer, mais également de quantifier chacun des deux génotypes est également disponible (Decaro *et al.*, 2005).

d) Anatomopathologie et histologie

Ces méthodes sont rarement utilisées pour le diagnostic en raison de la faible mortalité liée à cette infection. Les lésions macroscopiques sont peu caractéristiques. A l'histologie, les lésions sont plus typiques et permettent, en particulier, de faire le différentiel avec une infection par le Parvovirus. Le raccourcissement et la fusion des villosités intestinales ainsi que le creusement des cryptes sont très évocatrices. On retrouve également un épaissement de la *lamina propria* (Pratelli, 2005).

G) Traitement

Le traitement est le traitement symptomatique de la diarrhée : administration de pansements gastriques et éventuellement d'antispasmodiques. Il n'existe aucun traitement antiviral spécifique. En cas de diarrhée sévère avec déshydratation, en particulier chez le chiot, un traitement de soutien hydroélectrolytique doit être entrepris. L'antibiothérapie n'est pas indispensable, sauf en cas de surinfection. Une diète de 24 à 48h et un environnement chaud, le moins stressant possible, sont favorables à la guérison (Turner, 1989).

H) Prophylaxie

1) Sanitaire

Les mesures hygiéniques sont la base de la lutte contre le CCoV puisque la transmission s'effectue par les fèces. Comme pour les Coronavirus félines, les élevages de taille importante sont plus à risque.

En élevages, les mesures d'hygiène classiques doivent être appliquées : principe de la marche en avant, désinfection du matériel et locaux avec des produits basiques (hypochlorite de soude à 3%), isolement des animaux infectés. Cependant, lorsque le Coronavirus est présent dans un élevage, son éradication est très difficile, en raison de sa grande contagiosité.

2) Vaccination

Un premier vaccin vivant atténué commercialisé aux Etats-Unis en 1983 a été rapidement retiré du marché. En effet, de nombreuses intolérances, incluant des signes neurologiques et des morts subites, avaient été observées après la vaccination.

Il existe depuis d'autres vaccins commercialisés en Amérique du nord et dans certains pays d'Europe : un vaccin vivant atténué (Merial) et des vaccins inactivés (Fort Dodge, SmithKline Beecham). L'efficacité des vaccins inactivés est controversée. Après une exposition au CCoV, l'excrétion virale serait importante, malgré la vaccination.

Une étude d'innocuité et d'efficacité a été menée sur le vaccin vivant atténué (Pratelli *et al.*, 2004). Ce vaccin n'aurait pas d'effet secondaire notable. En effet, quatre chiens vaccinés avec 10 fois la dose nécessaire (deux par voie intramusculaire et deux par voie intranasale) n'ont pas présenté de réaction d'intolérance systémique ou locale. Les chiens vaccinés n'ont présenté aucun signe d'infection après exposition au virus, contrairement aux chiens du groupe témoin. Aucune excrétion virale n'a été observée chez les chiens vaccinés par voie intranasale, alors que les chiens vaccinés par voie intramusculaire ont excrété le virus dans les selles 5 à 10 jours après l'exposition. Cette différence s'expliquerait par une production plus importante d'IgA lors d'une vaccination par voie intranasale, ce qui permet une meilleure immunisation contre le virus. Les résultats obtenus lors de vaccination par voie intramusculaire sont, cependant, très satisfaisants. Le vaccin vivant atténué induirait donc une immunité générale précoce, ainsi qu'une immunité locale (IgA) au niveau du tube digestif, en particulier lors d'inoculation intranasale. Il serait le plus adapté pour lutter contre l'infection car l'immunité locale est essentielle dans la protection contre le CCoV (Pratelli, 2006).

La primo-vaccination se fait en deux injections à 3 semaines d'intervalle. Le rappel est annuel. Comme pour la plupart des vaccins, il faut tenir compte de la période critique pour s'assurer de l'efficacité de la primo-vaccination. L'injection est préconisée par voie

intramusculaire ou sous-cutanée, bien que l'étude de Pratelli *et al.* (2004) montre une plus grande efficacité de la voie intranasale.

Ce vaccin n'est cependant pas disponible en France, probablement en raison de la faible pathogénicité du virus et du très fort coût de fabrication de nouveaux vaccins présentant une valence supplémentaire.

I) Pronostic

L'infection par le CCoV est relativement bénigne et guérit dans les 7 à 10 jours, même si aucun traitement n'est mis en place. Le taux de mortalité est faible sauf lorsque le CCoV est associé à d'autres agents pathogènes (en particulier le CPV-2) ou lorsque le CCoV contamine un chiot particulièrement sensible, débilité ou nouveau-né, ne possédant pas d'anticorps maternels contre ce virus.

II. Evolutions du Coronavirus entérique vers de nouveaux variants

A) Mise en évidence de souches virulentes, responsables d'entérites fatales

Les souches classiques de Coronavirus canin sont assez peu pathogènes (1-71, K-378, C-54 et INSAVC-1). Elles sont souvent asymptomatiques ou induisent des entérites bénignes.

En 2001, Naylor *et al.* ont identifié une nouvelle souche de Coronavirus (UWSMN-1), beaucoup plus virulente que les souches classiques. Cette souche a été responsable d'un cas de gastroentérite fatale en Australie. Une analyse génétique a montré que des fragments du gène S de ce variant présentaient une forte homologie avec les CCoV de type II, mais qu'une accumulation progressive de mutations ponctuelles l'avaient fait diverger des souches classiques (Naylor *et al.*, 2002).

Une autre souche hypervirulente de CCoV, la souche BGF10, a été décrite en Grande-Bretagne dans un élevage de Beagles (Sanchez-Morgado *et al.*, 2004). Ce variant, assez proche génétiquement de la souche classique Insavc-1 (92,7% d'homologie), est caractérisé par une longue protéine non structurale 3b et une région divergente dans le domaine amino-terminal de la protéine M. Ces modifications pourraient être à l'origine du pouvoir pathogène de cette souche.

Deux cas de coronaviroses, ayant conduit au décès de l'animal ont été décrits par Evermann *et al.* en 2005. Chez ces deux chiots, le diagnostic de coronavirose a été confirmé post-mortem par microscopie électronique et immunohistologie et une infection concomitante par le CPV-2 a été exclue. Malheureusement, la souche pathogène responsable n'a pas été analysée.

L'ensemble de ces observations montre l'émergence de nouveaux biotypes virulents, associés à des troubles entéritiques plus sévères qu'avec les souches classiques, pouvant entraîner la mort de l'animal atteint.

B) Possibilité d'infections systémiques par la souche CB/05

En 2006, Buonavoglia *et al.* ont décrit l'existence d'un nouveau variant du Coronavirus canin capable de provoquer une infection systémique chez les chiots contaminés. Ce variant a été identifié comme une souche du CCoV type II, la souche CB/05.

Ce virus a provoqué une maladie fatale chez plusieurs chiots d'une animalerie, en Italie. Les signes cliniques retrouvés différaient des signes classiques et étaient plus sévères. Les chiots étaient en hyperthermie à 39,5-40°C, léthargiques. Ils présentaient une perte d'appétit, des vomissements, une diarrhée hémorragique, une leucopénie sévère et des signes neurologiques (ataxie, convulsions). Les animaux sont décédés rapidement, environ deux jours après le début des symptômes.

A l'autopsie, une entérite hémorragique, un abondant fluide séro-hémorragique dans la cavité abdominale et de sévères lésions parenchymateuses des organes (rate, le foie, les poumons et les reins) ont été retrouvées (Figure 25). Les poumons présentaient de multiples nodules hémorragiques et épaissis. Le foie était de couleur jaune-brun, congestionné, avec des hémorragies en surface. La rate était de grande taille et présentait des hémorragies sous-capsulaires. Des lésions d'infarctissement hémorragique multifocales étaient présentes sur les reins et des pétéchies étaient visibles à la surface des nœuds lymphatiques (Zappulli *et al.*, 2008).

Figure 25 : Cavité thoracique et foie d'un des chiots. Présence d'une coalescence, d'aires de fibroses sur les différents lobes pulmonaires et de zones d'infarcissement du foie (d'après Zappulli *et al.*, 2008)



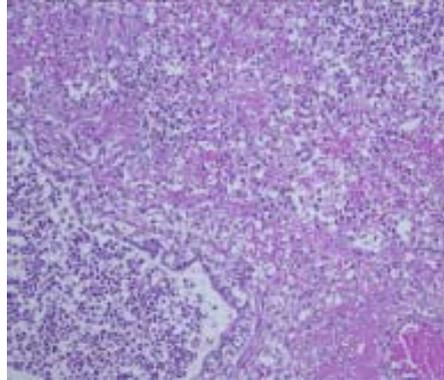
Les investigations virologiques et bactériologiques n'ont pas permis de mettre en évidence les agents pathogènes classiquement responsables d'entérites aiguës. Une recherche PCR a permis d'identifier du CCoV type I et II dans l'intestin des chiots atteints. Des titres élevés de CCoV type II ont également été retrouvés dans les poumons, la rate, le foie, les reins et l'encéphale. Dans tous ces tissus, sauf l'encéphale, la souche CB/05 a été identifiée.

La figure 26 montre les lésions pulmonaires retrouvées à l'histologie.

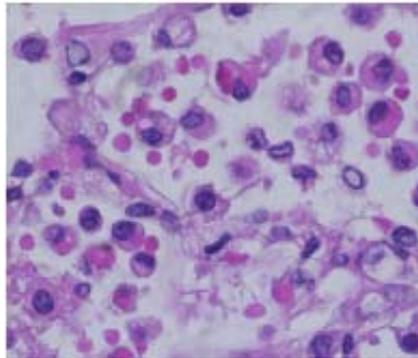
A l'immunohistochimie (Figure 26c), les macrophages présentaient une coloration diffuse de leur cytoplasme. Des cellules positives ont été détectées en région péribronchique et dans l'épithélium bronchique. Quelques cellules positives étaient également présentes dans le septum alvéolaire. La fluorescence a également été retrouvée en région périvasculaire dans le foie, la rate et les reins. Aucune fluorescence n'a été mise en évidence dans l'intestin grêle (Zappulli *et al.*, 2008).

Figure 26 : Lésions pulmonaires observées sur l'un des chiots à l'histologie (d'après Zappulli *et al.*, 2008).

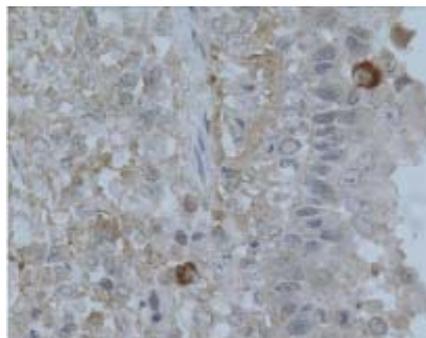
a) Infiltration sévère et dense fibrinopurulente des alvéoles et bronchioles.



b) Sévère érythrophagocytose intra-alvéolaire.



c) immunohistochimie sur les mononucléaires. Présence de cellules positives intralésionnelles en régions péribronchique et bronchique.



Une infection expérimentale de chiots par la souche CB/05 a induit les mêmes signes cliniques sévères que ceux décrit lors d'infection naturelle. Cependant, un chiot plus âgé (6 mois) a récupéré après avoir été malade (Buonavoglia *et al.*, 2006).

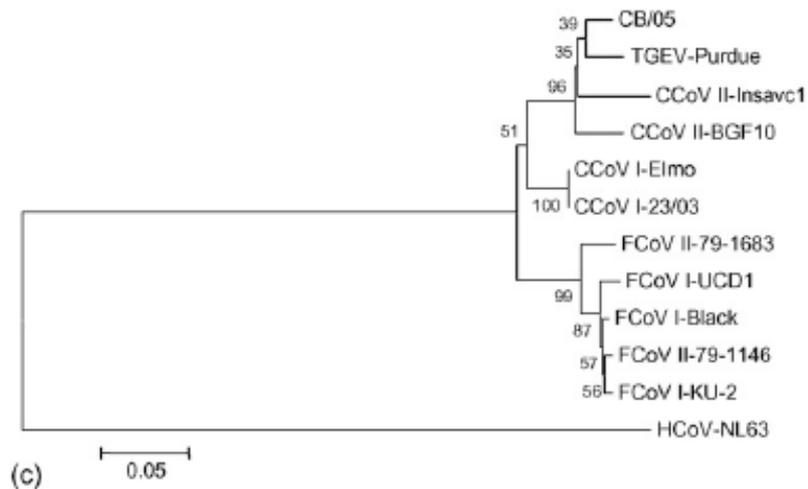
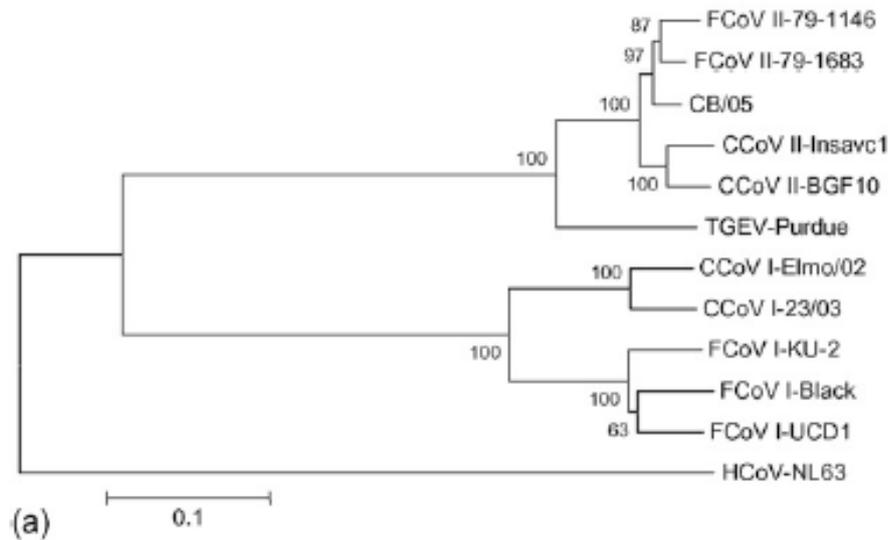
Une autre étude décrivant une infection expérimentale par la souche CB/05 (Decaro *et al.*, 2008) a confirmé l'infection généralisée provoquée par cette souche. Les mêmes symptômes

ont été observés et les mêmes lésions touchant les organes internes ont été décrites. La PCR a mis en évidence le CCoV dans ces tissus. La PCR a également mis en évidence des traces d'ARN dans le sang d'un des chiens. Dans cette étude, les chiots plus âgés ont éliminé le virus alors que les plus jeunes chiots ont dû être euthanasiés en raison de la gravité des symptômes. Cette observation confirme ce qui avait été décrit par Buonavoglia *et al.* (2006) et laisserait supposer que l'âge interviendrait dans la sensibilité à l'infection.

L'infection expérimentale par le CCoV CB/05 provoquerait des symptômes, y compris chez les chiens récemment infectés par une souche classique de CCoV entéritique. Malgré la forte immunité humorale des chiens testés contre le Coronavirus entéritique, l'inoculation expérimentale a provoqué des signes chez tous les animaux, et ceci quelle que soit la charge virale inoculée (Decaro et Buonavoglia, 2008).

L'analyse de la souche CB/05 a montré un fort degré d'homologie des séquences ORF avec le CCoV type II (Figure 27). Cependant, la protéine S de cette souche est plus proche de celle du FCoV type II 79-1683 (95% d'homologie). La souche CB/05 présente également une délétion dans la séquence ORF 3b. La protéine 3b, non-structurale, est donc tronquée (Decaro *et al.*, 2007a). Il est intéressant de remarquer que la souche pathogène décrite par Sanchez-Morgado *et al.* (2004) présentait également une modification de cette protéine 3b, qui n'est pas tronquée mais, au contraire, allongée. Pour savoir si le changement de virulence de la souche est effectivement dû à la modification de cette protéine, il serait nécessaire de produire des virus ayant spécifiquement une délétion du gène codant pour cette protéine.

Figure 27 : Analyse phylogénétique de la souche CB/05, basée sur l'analyse de la protéine S (a) et de la protéine M (c) (d'après Decaro *et al.*, 2007a)



L'ensemble de ces éléments démontre un changement de tropisme du virus. Celui-ci aurait acquis la capacité de passer du tractus digestif à l'ensemble des organes internes. Le changement de tropisme des Coronavirus est souvent associé à des mutations ponctuelles ou des délétions dans le gène codant pour la protéine S, comme c'est le cas pour le Coronavirus félin pathogène. Dans le cas du CCoV CB/05, la différence avec les souches classiques serait due plutôt à la délétion dans le gène codant pour la protéine 3b, non structurale. D'autres études sont, cependant, nécessaires pour déterminer le mécanisme permettant une infection systémique par cette souche.

De plus, des études épidémiologiques permettront de savoir si ce virus est effectivement un nouveau variant ou s'il s'agit d'un agent pathogène déjà répandu dans la population canine, et qui n'avait jusqu'alors jamais été détecté.

C) Mise en évidence de souches TGEV-like

D'autres souches ont été isolées par Decaro *et al.* (2009), dans les fèces et les organes internes de chiens décédés de gastroentérite aiguë. L'étude de ces souches a montré qu'elles étaient très proches génétiquement du TGEV dans la portion N-terminale du gène S. Les autres parties du génome sont apparentées au CCoV type II. La structure de ces souches TGEV-like laisse supposer qu'elles proviennent d'une double recombinaison entre le TGEV et le CCoV. Ces observations suggèrent de diviser le génotype II en génotype IIa, regroupant les souches de référence et en génotype IIb, contenant les souches TGEV-like.

III. Le coronavirus canin à tropisme respiratoire

Récemment, une étude portant sur les agents responsables d'affections respiratoires chez le chien a conduit à la mise en évidence d'un Coronavirus canin à tropisme respiratoire. Ce virus, appelé CRCoV, appartient aux Coronavirus du groupe 2.

A) Mise en évidence et classification

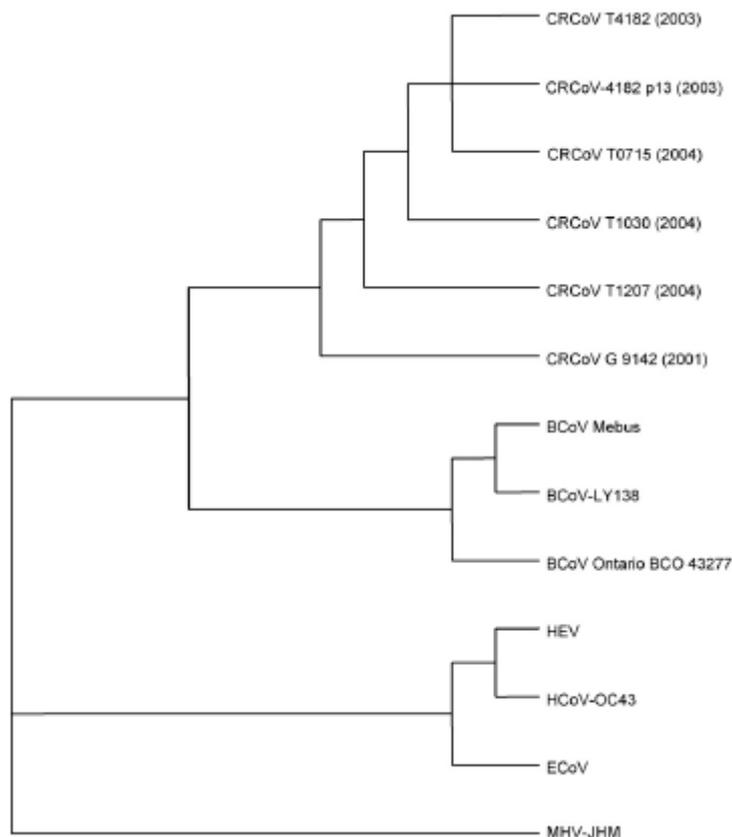
Le Coronavirus canin à tropisme respiratoire a été mis en évidence pour la première fois en 2003 dans un chenil du Royaume-Uni, qui présentait des infections respiratoires endémiques (Erles *et al.*, 2003). Cette étude avait pour objectif de déterminer les agents impliqués dans les affections respiratoires infectieuses du chien (« toux de chenil »). La recherche de Coronavirus a été effectuée car des membres de cette famille sont responsables d'affections respiratoires chez l'homme, le bétail, le porc et les volailles. Une détection par RT-PCR a permis de mettre en évidence du Coronavirus dans 32/119 prélèvements trachéaux et 20/119 prélèvements pulmonaires.

L'analyse génétique du virus a montré des homologies importantes du CRCoV avec les Coronavirus des bovins, en particulier dans la structure de la réplicase et de la protéine S. L'analyse du gène S de la souche T101 de CRCoV a, en effet, révélé respectivement 97,3% et 96,9% d'homologie nucléotidique avec le BCoV et le HCoV-OC43. Ceci laisse supposer l'existence d'un ancêtre commun aux trois virus, avec plusieurs changements d'hôte, qui aurait permis l'émergence de nouveaux virus. Le CRCoV est, au contraire, assez éloigné génétiquement du CCoV entérique puisqu'on ne retrouve que 21,2% d'homologie en comparant les acides-aminés des deux protéines S. De plus, Erles *et al.* (2003) ont pu démontrer la présence d'un gène HE dans les cDNA obtenus à partir des prélèvements trachéaux. Le CRCoV a donc été classé dans les Coronavirus du groupe 2, avec les Coronavirus bovins et le Coronavirus humain HCoV-OC43, dont il est très proche.

Une autre étude menée par Erles *et al.* en 2007 a permis d'isoler le CRCoV-4182 et d'étudier plus en détail la structure génétique de ce virus. Cette étude a confirmé la forte analogie structurale avec le BCoV et a démontré que la région la plus divergente entre les deux virus se situait entre le gène S et un gène codant pour une protéine non structurale de 12,8 kDa. L'étude de cette séquence permettra peut-être de comprendre l'origine du CRCoV et de déterminer s'il provient d'une transmission du BCoV au chien. Enfin, l'étude a permis de

dresser l'arbre phylogénétique des différentes souches de CRCoV (Figure 28). La séquence la plus variable du CRCoV serait localisée dans une région située entre le gène S et le gène E.

Figure 28 : Analyse phylogénétique des Coronavirus canins respiratoires, basée sur la comparaison de la région située entre les gènes codant pour la protéine S et E des différents Coronavirus du groupe 2 (d'après Erles *et al.*, 2007)



L'hypothèse d'une origine bovine du CRCoV a été renforcée par le succès de l'infection expérimentale de chiots par une souche de BCoV classique (Decaro et Buonavoglia, 2008).

B) Épidémiologie

1) Descriptive

a) Répartition

Les études sérologiques (utilisant des antigènes bovins) ont permis de confirmer la présence de ce virus au Royaume-Uni, en Amérique du nord, au Japon et en Italie. Le CRCoV a également été détecté en Irlande et en Grèce (Priestnall *et al.*, 2006).

Au Japon, 96 prélèvements effectués sur des chiens présentant des signes entéritiques et/ou respiratoires ont été rétrospectivement testés par RT-PCR pour le Coronavirus canin respiratoire (Yachi et Mochizuki, 2006). Un résultat positif a été obtenu pour deux chiens, confirmant la présence de ce virus au Japon. L'analyse génétique montrait une très grande parenté génétique avec la souche décrite au Royaume-Uni (98,5% d'homologie nucléotidique).

b) Prévalence

Une étude visant à déterminer la prévalence du virus dans la population générale au Royaume-Uni et à l'extérieur du pays a été menée en 2006 (Priestnall *et al.*). 54,7% des chiens testés en Amérique du Nord et 36% des chiens testés au Royaume-Uni ont présenté une sérologie positive pour le CRCoV. Les anticorps des chiens ne provenant pas du Royaume-Uni se liaient à l'antigène produit à partir de l'isolat 4182 (découvert au Royaume-Uni). Ceci suggère un haut degré de réactions croisées entre les souches d'origines géographiques différentes.

En Italie, la séroprévalence évaluée sur les années 2005 et 2006 met en évidence 32,06% de chiens positifs (Decaro *et al.*, 2007b). L'analyse d'une souche par RT-PCR montre 98% d'homologie avec la souche T101 isolée en 2003 au Royaume-Uni. Une seconde étude menée sur des prélèvements effectués entre 1999 et 2006, évalue la prévalence dans le sud de l'Italie à 23,3% (Priestnall *et al.*, 2007). Cette étude montre une stabilité de la prévalence du CRCoV dans la population canine italienne.

Globalement, les études menées laissent supposer que le Coronavirus canin respiratoire est relativement répandu et cosmopolite. Elles ont permis de déterminer un taux de prévalence de l'infection compris entre 17,8 (Japon) et 54,7% (Etats-Unis).

c) Facteurs de risque

D'après Priestnall *et al.* (2006), les chiens adultes présentent plus fréquemment une sérologie positive pour le CRCoV. Chez les chiens étudiés, en Amérique du Nord et au Royaume-Uni, le titre en anticorps augmente de façon marquée à partir de 6 mois, ce qui correspond au début de la socialisation et des contacts intraspécifiques. Ce titre semble décliner vers 10-12 ans, ce qui pourrait s'expliquer par la perte d'efficacité du système immunitaire et donc à la diminution de la production d'anticorps chez les chiens âgés. La même influence de l'âge a été observée par Priestnall *et al.* en 2007 dans une étude menée en Italie.

Il semblerait que, tout comme le CCoV, le CRCoV subirait une influence saisonnière et serait davantage présent en hiver (Erles et Brownlie, 2008). Le CRCoV est, cependant détecté tout au long de l'année dans les chenils présentant des affections respiratoires enzootiques.

Les autres facteurs de risque ont été peu étudiés.

2) Analytique

Le mode de transmission du virus a été relativement peu étudié. Il se propage très rapidement dans un chenil, ce qui laisse supposer qu'il est très contagieux.

Il est principalement détecté dans les prélèvements respiratoires, et se transmettrait donc par les sécrétions respiratoires. Il entrerait dans le système respiratoire par inhalation d'aérosols et par contact avec des sécrétions ou des surfaces contaminées.

Le virus ayant été retrouvé dans le colon et les nœuds lymphatiques mésentériques, la possibilité d'une contamination oro-fécale ne peut être exclue, mais reste à explorer.

La durée d'excrétion du virus n'a pas été déterminée.

C) Pathogénie

Le CRCoV est associé aux agents responsables du syndrome « toux de chenil » et intervient rarement seul. La pathogénie et les symptômes sont donc à étudier en tenant compte des autres agents intervenant dans ce syndrome.

1) Le complexe « toux de chenil »

Ce complexe est associé à différents virus : le virus parainfluenza canin (CPIV), l'adenovirus canin type 2 (CAV) et l'herpèsvirus canin. Des bactéries sont retrouvées, aussi bien en tant qu'agents pathogènes primaires que lors de surinfections. Il s'agit principalement de *Bordetella bronchiseptica*, mais également des mycoplasmes, comme *Mycoplasma cynos*. Dans quelques rares cas de toux de chenil, particulièrement sévère, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidermicus* a été isolée.

2) L'infection virale

Le CRCoV est généralement détecté dans les cavités nasales, la portion nasale des amygdales et la trachée. Moins fréquemment, on le retrouve dans les poumons, les nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques et la portion palatine des amygdales. La voie d'entrée principale est donc le système respiratoire et le chien se contamine par les aérosols ou par contact avec des sécrétions.

Le CRCoV a également été détecté dans la rate, les nœuds lymphatiques mésentériques et le côlon (mais pas dans le contenu intestinal). Le tropisme ne semble donc pas uniquement respiratoire. La capacité du CRCoV à se répliquer dans les cellules gastro-intestinales et les conséquences pathogéniques sont à explorer.

Une des hypothèses sur la pathogénie du virus est qu'il agirait comme le virus humain 229E, en provoquant des lésions de l'épithélium respiratoire et une dyskinésie de l'épithélium cilié.

Ceci faciliterait l'entrée des autres agents pathogènes impliqués dans les maladies infectieuses respiratoires du chien. C'est pourquoi le virus n'est généralement retrouvé que dans les premiers stades de l'infection (Erles *et al.*, 2003).

3) L'immunogénicité

La production des anticorps anti-CRCoV est très rapide. Dans l'étude de Erles *et al.* (2003), 30% des animaux présentaient des anticorps à l'entrée dans le chenil (testé avec une ELISA basée sur le BCoV). Après 21 jours, 99% des animaux étaient séropositifs. Ceci montre la grande contagiosité du virus.

Les anticorps semblent avoir un effet protecteur intéressant puisque les animaux séropositifs développent moins de symptômes respiratoires que les autres (Erles *et al.*, 2003).

D) Signes cliniques

Le virus est souvent asymptomatique ou associé à des infections modérées. Il est rarement retrouvé dans les cas plus sévères. Dans l'étude de Erles *et al.* (2003), il était présent chez 26,2% de chiens asymptomatiques et 27,3% de chiens présentant tous les grades d'infection. Il était plus fréquemment retrouvé dans les stades légers (55,6% des prélèvements trachéaux et 22,2% des prélèvements pulmonaires) que dans les stades modérés (19,6% des prélèvements trachéaux et 17,4% des prélèvements pulmonaires) ou sévères (15,4% des prélèvements trachéaux et 0% des prélèvements pulmonaires).

Les chiens présentent généralement une toux productive associée à des écoulements nasaux.

Le CRCoV a été retrouvé chez des chiens ne présentant pas de symptôme respiratoire, mais des symptômes plus généraux. Ainsi, il a été détecté dans les poumons, la rate, les nœuds lymphatiques mésentériques et l'intestin de chiens présentant une diarrhée hémorragique aiguë. Cependant, chez ces chiens, le CCoV et le CPV-2 ont également été détectés et sont, probablement, à l'origine des symptômes observés (Erles et Brownlie, 2008).

E) Diagnostic

Le diagnostic clinique est totalement impossible puisque plusieurs agents pathogènes sont impliqués dans la toux de chenil. Le diagnostic fait donc appel à différentes méthodes de laboratoire, qui sont désormais relativement disponibles (Erles et Brownlie, 2008).

1) La RT-PCR

La RT-PCR est un des tests les plus précis pour mettre en évidence le CRCoV dans des prélèvements respiratoires. Il existe deux types de RT-PCR qualitatives, l'une basée sur le gène codant pour la protéine S et l'autre sur le gène de l'hémagglutinine-estérase.

Elles s'effectuent sur les écouvillons réalisés dans les cavités nasales, éventuellement dans la cavité buccale. La RT-PCR est également possible sur des lavages nasaux ou trachéaux, lors d'infection active. A l'examen *post-mortem*, des prélèvements de cavité nasale, d'amygdales, de trachée et de poumons sont utilisés.

La RT-PCR a une forte sensibilité et est très intéressante pour examiner des prélèvements comportant peu de cellules, comme les prélèvements oro-pharyngés et des cavités nasales.

Les deux types de RT-PCR disponibles sont spécifiques du CRCoV et ne détectent pas le CCoV (Erles et Brownlie, 2008).

2) L'isolation en culture cellulaire

L'isolation en culture cellulaire est très difficile. Elle a uniquement été réalisée sur des cellules tumorales rectales humaines (lignée HRT-18G). Cette méthode n'est donc pas utilisée pour détecter le CRCoV.

3) L'immunohistochimie

L'immunohistochimie a été utilisée sur des tissus fixés dans le formol. Elle est donc intéressante pour réévaluer la présence de CRCoV *a posteriori*, dans des tissus archivés. Elle utilise des anticorps dirigés contre le BCoV. La sensibilité par rapport à la PCR n'a pas été déterminée.

4) La sérologie

La sérologie est un test intéressant à condition d'effectuer deux prélèvements, l'un lors de l'apparition de la maladie et l'autre au moins deux à trois semaines après.

Il n'existe pas de réaction croisée avec le CCoV.

La plupart des tests utilisent comme antigène le BCoV, en raison de sa grande similarité avec le CRCoV. Il existe ainsi une ELISA et une séroneutralisation basées sur le BCoV. Un test d'agglutination est également disponible, mais celui-ci présente une sensibilité et une spécificité médiocres.

Une ELISA utilisant le CRCoV a été développée récemment. Sa sensibilité et sa spécificité seraient très légèrement meilleures que celles de l'ELISA basée sur le BCoV. Les résultats de ces deux tests sont toutefois relativement comparables (Erles et Brownlie, 2008).

Les anticorps anti-CRCoV peuvent, enfin, être mis en évidence par immunofluorescence sur des cellules HRT-18 infectées par le CRCoV (Erles et Brownlie, 2008).

F) Traitement

Il n'existe pas de traitement spécifique du CRCoV. Comme dans tous les cas de maladies respiratoires infectieuses, l'élément essentiel est de prévenir ou de traiter les surinfections bactériennes. Même si les signes cliniques sont modérés, les patients doivent être bien suivis car leur état peut s'aggraver rapidement, en fonction des agents impliqués.

G) Prévention

1) Prophylaxie hygiénique

La persistance du CRCoV dans le milieu extérieur n'a pas été étudiée. Cependant, pour les autres Coronavirus, la persistance dans les sécrétions respiratoires est de plus de 7 jours. De même, la durée d'excrétion du virus n'est pas connue.

Les règles classiques d'hygiène doivent être respectées en chenil pour éviter la propagation. Ceci inclut en particulier le nettoyage et la désinfection des surfaces (avec les nettoyants classiques), une hygiène des soigneurs (nettoyage des mains) et une quarantaine d'au moins deux mois avant l'introduction d'un nouvel animal.

2) Vaccination

Il n'existe actuellement aucun vaccin contre le CRCoV.

Les vaccins développés contre le CCoV ne semblent pas avoir d'effet protecteur contre le CRCoV.

Les vaccins agissant contre les autres agents impliqués dans la toux de chenil n'évitent pas totalement le risque de maladie respiratoire infectieuse. En effet, dans le chenil étudié par Erles *et al.* en 2003, les maladies respiratoires étaient endémiques, malgré une vaccination régulière. Ces vaccins limitent, cependant les symptômes, en réduisant le nombre d'agents pathogènes impliqués.

IV. Conclusion

Les Coronavirus canins sont encore relativement peu connus, en raison de leur faible pouvoir pathogène. Cependant, leur forte capacité d'évolution génétique, ayant provoqué l'apparition de souches virulentes, et la découverte du Coronavirus à tropisme respiratoire, ont suscité un regain d'intérêt. Beaucoup de mécanismes sont encore à élucider, en ce qui concerne l'évolution phylogénique et la pathogénie de ces virus.

Le Coronavirus canin n'a jamais été retrouvé chez l'être humain. Aucune séroconversion n'a été mise en évidence chez l'homme, même parmi le personnel exposé, comme les soigneurs dans les chenils (Green, 1989). Cependant, la découverte du CRCoV, très proche du virus humain OC43, relance le débat d'une transmission interspécifique entre le chien et l'homme.

CONCLUSION

Les Coronaviruses des carnivores domestiques sont des affections cosmopolites, qui se propagent souvent rapidement au sein d'une population. Ces virus peuvent être à l'origine de maladies complexes, pas encore totalement maîtrisées par le monde scientifique. Le praticien reste donc trop souvent démuné face à ces infections.

La pathogénie de la péritonite infectieuse féline, en particulier le déterminisme du pouvoir pathogène du FIPV par rapport au FECV, est extrêmement complexe. Sa compréhension permettrait probablement d'accéder à des moyens de lutte adéquats, traitement spécifique ou vaccin. D'autre part, même si cette maladie est mieux appréhendée par les vétérinaires et bien plus diagnostiquée qu'auparavant, le diagnostic de certitude reste complexe et s'appuie sur de nombreux signes et examens en faveur. Beaucoup trop de praticiens se contentent encore d'un test rapide positif pour confirmer leur suspicion.

Les Coronaviruses du chien sont extrêmement peu connues, malgré la découverte de nombreuses souches et en particulier de souches pathogènes mortelles. Elles sont rarement recherchées en pratique lors de diarrhée aiguë. De même, le Coronavirus canin respiratoire n'est pas connu du praticien, en raison de sa découverte très récente.

De nombreux éléments sont donc encore à découvrir concernant cette famille virale. La recherche fondamentale apparaît particulièrement importante, d'autant plus que les maladies provoquées chez les carnivores peuvent avoir de graves conséquences, en particulier en élevage. D'autre part, le fort pouvoir évolutif des Coronavirus laisse craindre un possible changement d'hôte et la transmission d'un de ces virus à l'homme. Une meilleure connaissance de ces agents pathogènes permettrait donc de réagir au mieux à cette éventuelle menace.

BIBLIOGRAPHIE

- ADDIE DD. (2004a) Feline Coronavirus – that enigmatic little critter. *Vet. J.*, **167**, 5-6.
- ADDIE DD. (2004b) (Mise à jour le 1^{er} février 2006) What is feline infectious peritonitis ? [en ligne], [<http://dr-addie.com>], (consulté le 23 août 2008).
- ADDIE DD, JARRETT O. (1992) A study of naturally occurring feline Coronavirus infections in kittens. *Vet. Rec.*, **15**, 133-138.
- ADDIE DD, JARRETT O. (2001) Use of a reverse-transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline Coronavirus by healthy cats. *Vet. Rec.*, **148**, 649-653.
- ADDIE DD, TOTH S, MURRAY GD, JARRETT O. (1995) Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline Coronavirus. *Am. J. Vet. Res.*, **56**, 429-434.
- ADDIE DD, TOTH S, HERREWEGH AAPM, JARRETT O. (1996) Feline Coronavirus in the intestinal contents of cats with feline infectious peritonitis. *Vet. Rec.*, **139**, 522-523.
- ADDIE DD, DENNIS JM, TOTH S, CALLANAN JJ, REID S, JARRETT O. (2000) Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. *Vet. Rec.*, **146**, 419-424.
- ADDIE DD, SCHAAP IAT, NICOLSON L, JARRETT O. (2003) Persistence and transmission of natural type I feline Coronavirus infection. *J. Gen. Virol.*, **84**, 2735-2744.
- ADDIE DD, McLACHLAN SA, GOLDER M, RAMSEY I, JARRETT O. (2004 a) Evaluation of an in-practice test for feline coronavirus antibodies. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 63-67.
- ADDIE DD, KENNEDY LJ, RYVAR R, WILLOUGHBY K, GASKELL RM, OLLIER WER *et al.* (2004 b) Feline leucocyte antigen class II polymorphism and susceptibility to feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 59-62.
- ADDIE DD, PALTRINIERI S, PEDERSEN NC (2004c). Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 125-130.
- BALZARINI J, KEYAERTS E, VIJGEN L, EGBERINK H, DE CLERCQ E, VAN RANST M *et al.* (2006) Inhibition of feline (FIPV) and human (SARS) coronavirus by semisynthetic derivatives of glycopeptide antibiotics. *Antiviral Research*, **72**, 20-33.

- BENETKA V, KÜBBER-HEISS A, KOLODZIEJEK J, NOWOTNY N, HOFMANN-PARISOT M, MÖSTL K. (2004) Prevalence of feline Coronavirus types I and II in cats with histopathologically verified feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.*, **99**, 31-42.
- BENETKA V, KOLODZIEJEK J, WALK K, RENNHOFFER M, MOSTL K. (2006) M gene analysis of atypical strains of feline and canine coronavirus circulating in an Austrian animal shelter. *Vet. Rec.*, **159**, 170-175.
- BRADSHAW JM, PEARSON GR, GRUFFYDD-JONES TJ. (2004) A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat. *J. Comp. Pathol.*, **131**, 112-120.
- BUONAVOGLIA C, DECARO N, MARTELLA V, ELIA G, CAMPOLO M, DESARIO C *et al.* (2006) Canine Coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg. Infect. Dis.*, **12**, 492-494.
- CACHON T, CHUZEL T. (2005a) Epidémiologie, pathogénie et symptômes de la PIF. *Point Vét.*, **36** (254), 18-21.
- CACHON T, CHUZEL T (2005b). La PIF : diagnostic et traitement. *Point Vét.*, **36** (255), 18-21.
- CANNON MJ, SILKSTONE MA, KIPAR AM. (2005) Cutaneous lesions associated with coronavirus-induced vasculitis in a cat with feline infectious peritonitis and concurrent feline immunodeficiency virus infection. *J. Feline. Med. Surg.*, **7**, 233-236.
- DECARO N, BUONAVOGLIA C. (2008) An update on canine coronaviruses : viral evolution and pathobiology. *Vet. Microbiol.*, **132**, 221-234.
- DECARO N, PRATELLI A, CAMPOLO M, ELIA G, MARTELLA V, TEMPESTA M *et al.* (2004) Quantitation of canine coronavirus RNA in the faeces of dogs by TaqMan RT-PCR. *J. Virol. Methods*, **119**, 145-150.
- DECARO N, MARTELLA V, RICCI D, ELIA G, DESARIO C, CAMPOLO M *et al.* (2005) Genotype-specific fluorogenic RT-PCR assays for the detection and quantitation of canine coronavirus type I and type II RNA in faecal samples of dogs. *J. Virol. Methods*, **130**, 72-78.
- DECARO N, MARTELLA V, ELIA G, CAMPOLO M, DESARIO C, CIRONE F *et al.* (2007a) Molecular characterisation of the virulent canine coronavirus CB/05 strain. *Virus research*, **125**, 54-60.
- DECARO N, DESARIO C, ELIA G, MARI V, LUCENTE MS, CORDIOLI P *et al.* (2007b) Serological and molecular evidence that canine respiratory coronavirus is circulating in Italy. *Vet. Microbiol.*, **121**, 225-230.
- DECARO N, CAMPOLO M, LORUSSO A, DESARIO C, MARI V, COLAIANNI ML *et al.* (2008) Experimental infection of dogs with a novel strain of canine coronavirus causing systemic disease and lymphopenia. *Vet. Microbiol.*, **128**, 253-260.

DECARO N, MARI V, CAMPOLO M, LORUSSO A, CAMERO M, ELIA G *et al.* (2009) Recombinant canine coronaviruses related to transmissible gastroenteritis virus of swine are circulating in dogs. *J. Virol.*, article in press.

DE GROOT-MIJNES JDF, VAN DUN JM, VAN DER MOST RG, DE GROOT RJ. (2005) Natural history of a recurrent feline Coronavirus infection and the role of cellular immunity in survival and disease. *J. Virol.*, **79**, 1036-1044.

DEWERCHIN HL, CORNELISSEN E, NAUWYNCK HJ. (2005) Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. *Arch. Virol.*, **150**, 2483-2500.

DEWERCHIN HL, CORNELISSEN E, NAUWYNCK HJ. (2006) Feline infectious peritonitis virus-infected monocytes internalize viral membrane-bound proteins upon antibody addition. *J. Gen. Virol.*, **87**, 1685-1690.

DUTHIE S, ECKERSALL PD, ADDIE DD, LAWRENCE CE, JARRETT O. (1997) Value of α 1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet. Rec.*, **141**, 299-303.

DYE C, TEMPERTON N, SIDDELL SG. (2007) Type I feline Coronavirus spike glycoprotein fails to recognize aminopeptidase N as a functional receptor on feline cell lines. *J. Gen. Virol.*, **88**, 1753-1760.

ELOIT M. (1994) La péritonite infectieuse féline. *Rec. Méd. Vét.*, **170**, 701-709.

ELOIT M, LEPODER S. (2004). *Virologie (Tome 2)*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de Virologie. 196p.

ERLES K, BROWNLIE J. (2008) Canine respiratory Coronavirus : an emerging pathogen in the canine infectious respiratory disease complex. *Vet. Clin.North Am. Small Anim. Pract.*, **38**, 815-825.

ERLES K, TOOMEY C, BROOKS HW, BROWNLIE J. (2003) Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology*, **310**, 216-223.

ERLES K, SHIU K-B, BROWNLIE J. (2007) Isolation and sequence analysis of canine respiratory coronavirus. *Virus Research*, **124**, 78-87.

EVERMANN JF, McKEIRNAN AJ, EUGSTER AK, SOLOZANO RF, COLLINS JK, BLACK JW *et al.* (1989) Update on Canine Coronavirus infections and interactions with other enteric pathogens of the dog. *Compan. Anim. Pract.*, **19**, 6-11.

EVERMANN JF, ABBOTT JR, HAN S. (2005) Canine coronavirus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **17**, 610-614.

FEHR D, HOLZNAGEL E, BOLLA S, HAUSER B, HERREWEGH AAPM, HORZINEK MC *et al.* (1995) Evaluation of the safety and efficacy of a modified live FIPV vaccine under field conditions. *Feline Pract.*, **23**, 83-88.

FOLEY JE, PEDERSEN NC. (1996) The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis in purebred catteries. *Feline Pract.*, **24**, 14-22.

FOLEY JE, LAPOINTE J-M, KOBLIK P, POLAND A, PEDERSEN NC (1998). Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis. *J. Vet. Intern Med.*, **12**, 415-423.

FOLEY JE, RAND C, LEUTENEGGER C. (2003) Inflammation and changes in cytokine levels in neurological feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, **5**, 313-322.

GAMET Y. (1999) La péritonite infectieuse feline. Symptômes, diagnostic et prophylaxie. *Point Vét.*, **30**, 273-278.

GERMAN AC, HELPS CR, HARBOUR DA. (2004) FIP : a novel approach to vaccination. Proceedings from the 2nd International FCoV/FIP symposium, Glasgow, 4-7 august 2002. *J. Feline. Med. Surg.*, **6**, 119-124.

GIORDANO A, PALTRINIERI S. (2008) Interferon- γ in the serum and effusions of cats with feline coronavirus infection. *Vet. J.*, article in press.

GIORDANO A, SPAGNOLO V, COLOMBO A, PALTRINIERI S. (2004) Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.*, **167**, 38-44.

GLANSBEEK HL, HAAGMANS BL, TE LINTELO EG, EGBERINK HF, DUQUESNE V, AUBERT A *et al.* (2002) Adverse effects of feline IL-12 during DNA vaccination against feline infectious peritonitis virus. *J. Gen. Virol.*, **83**, 1-10.

GONON V. (1998) Les Coronavirus félines. *Virologie*, **2**, 205-213.

GONON V, DUQUESNE V, KLONJKOWSKI B, MONTEIL M, AUBERT A, ELOIT M. (1999) Clearance of infection in cats naturally infected with feline coronaviruses is associated with an anti-S glycoprotein antibody response. *J. Gen. Virol.*, **80**, 2315-2317.

GREEN CE. (1989) Canine Coronaviral infection. *Companion Anim. Pract.*, **19**, 2-5.

GUNN-MOORE DA, GRUFFYDD-JONES TJ, HARBOUR DA. (1998) Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.*, **62**, 193-205.

HAAGMANS BL, EGBERINK HF, HORZINEK MC. (1996) Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis. *J. Virol.*, **70**, 8977-8983.

HAIJEMA BJ, VOLDERS H, ROTTIER PJM. (2004) Live, attenuated coronavirus vaccines through the directed deletion of group-specific genes provide protection against feline infectious peritonitis. *J. Virol.*, **78**, 3863-3871.

HARTMANN K. (2005) Feline Infectious Peritonitis. *Vet. Clin. Small Anim.*, **35**, 39-79.

HARTMANN K, RITZ S. (2008) Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **123**, 172-175.

HARTMANN K, BINDER C, HIRSCHBERGER J, COLE D, REINACHER M, SCHROO S *et al.* (2003) Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *J. Vet. Intern Med.*, **17**, 781-790.

HEBERT F. (2005) *Guide pratique de médecine interne canine et féline*. Paris : Med'com, 456p.

HEENEY JL, EVERMANN JF, McKEIRNAN AJ, MARKER-KRAUS L, ROELKE ME, BUSH M *et al.* (1990). Prevalence and implications of feline Coronavirus infections of captive and free-ranging Cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *J. Virol.*, **64**, 1964-1972.

HERREWEGH AAPM, DE GROOT RJ, CEPICA A, EGBERINK HF, HORZINEK MC, ROTTIER PJM. (1995) Detection of feline Coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 684-689.

HERREWEGH AAPM, SMEENK I, HORZINEK MC, ROTTIER PJM, DE GROOT RJ. (1998) Feline Coronavirus Type II Strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between Feline Coronavirus type I and Canine Coronavirus. *J. Virol.*, **72**, 4508-4514.

HICKMAN MA, MORRIS JG, ROGERS QR, PEDERSEN NC. (1995) Elimination of feline Coronavirus infection from a large experimental specific pathogen-free cat breeding colony by serologic testing and isolation. *Feline Pract.*, **23**, 96-102.

HOHDATSU T, OKADA S, ISHIZUKA Y, YAMADA H, KOYAMA H. (1992) The prevalence of types I and II feline Coronavirus infections in cats. *J. Vet. Med. Sci.*, **54**, 557-562.

HOHDATSU T, YAMATO H, OHKAWA T, KANEKO M, MOTOKAWA K, KUSUHARA H *et al.* (2003) Vaccine efficacy of a cell lysate with recombinant baculovirus-expressed feline infectious peritonitis (FIP) virus nucleocapsid protein against progression of FIP. *Vet. Microbiol.*, **97**, 31-44.

HOK K. (1991) A comparison between immunofluorescence staining on smears from *Membrana nictitans* (M3 test), immunohistopathology and routine pathologie in cats with suspected feline infectious peritonitis (FIP). *Acta vet. Scand.*, **32**, 171-176.

HORZINEK MC. (2004) The bright future of coronavirology. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 49-51.

HORZINEK MC, LUTZ H. (2001) An update on feline infectious peritonitis. *Veterinary sciences tomorrow*. Issue 1. [en ligne], [\[http://www.vetscite.org/issue1/reviews/txt_index_0800.htm\]](http://www.vetscite.org/issue1/reviews/txt_index_0800.htm), (consulté le 20 août 2008).

HUDELET P. (1998) *La Coronavirose canine en France, contribution à l'étude épidémiologique de la séroprévalence en élevage*. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°42, 124 p.

ISHIDA T, SHIBANAI A, TANAKA S, UCHIDA K, MOCHIZUKI M. (2004) Use of recombinant feline interferon and glucocorticoid in the treatment of feline infectious peritonitis. *J. Feline Med Surg.*, **6**, 107-109.

JURIN C. (1999) *Epidémiologie et diagnostic de la parvovirose et de la coronavirose canine. Etudes bibliographiques et expérimentales*. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°40, 84p.

KEYAERTS E, VIJGEN L, PANNECOUQUE C, VAN DAMME E, PEUMANS W, EGBERINK H *et al.* (2007) Plant lectins are potent inhibitors of coronaviruses by interfering with two targets in the viral replication cycle. *Antiviral Research*, **75**, 179-187.

KIPAR A, BELLMANN S, KREMENDAHL J, KÖHLER K, REINACHER M. (1998) Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopath.*, **65**, 243-257.

KIPAR A, KOHLER K, LEUKERT W, REINACHER M. (2001) A comparaison of lymphatic tissues from cats with spontaneous feline infectious peritonitis (FIP), cats with FIP virus infection but no FIP, and cats with no infection. *J. Comp. Pathol.*, **125**, 182-191.

KISS I, KECSKEMETI S, TANYI J, KLINGEBORN B, BELAK S. (2000) Prevalence and genetic pattern of feline coronaviruses in urban cat population. *Vet. J.*, **159**, 64-70.

KISS I, POLAND AM, PEDERSEN NC. (2004) Disease outcome and cytokine responses in cats immunized with an avirulent feline infectious peritonitis virus (FIPV)-UCD1 and challenge-exposed with virulent FIPV-UCD8. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 89-97.

KUMMROW M, MELI ML, HAESSIG M, GOENCZI E, POLAND A, PEDERSEN NC *et al.* (2005) Feline Coronavirus serotypes 1 and 2 : seroprevalence and association with disease in Switzerland. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **12**, 1209-1215.

KUO L, GODEKE GJ, RAAMSMAN MJB, MASTERS PS, ROTTIER PJM. (2000) Retargeting of Coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain : crossing the host cell species barrier. *J. Virol.*, **74**, 1393-1406.

LE PODER S. (2005) Péritonite infectieuse féline. *Encyclopédie vétérinaire (Elsevier SAS, Paris)*, médecine générale, **1700**, 1-7.

LI W, WONG SK, LI F, KUHN JH, HUANG IC, CHOE H *et al.* (2006) Animal origins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus : insight from ACE2-S-protein interactions. *J. Virol.*, **80**, 4211-4219.

LORUSSO A, DECARO N, SCHELLEN P, ROTTIER PJM, BUONAVOGLIA C, HAIJEMA BJ *et al.* (2008) Gain, preservation and loss of a group 1a Coronavirus accessory glycoprotein. *J. Virol.*, article in press.

LUTZ H, HAUSER B, HORZINEK MC. (1986) La péritonite infectieuse féline (P.I.F.) bilan des connaissances actuelles. *Rec. Méd. Vét.*, **162**, 57-62.

McREYNOLDS C, MACY D. (1997a) Feline infectious peritonitis. Part I. Etiology and diagnosis. *The Compendium*, **19**, 1007-1015.

McREYNOLDS C, MACY D. (1997b) Feline infectious peritonitis. Part II. Treatment and prevention. *The Compendium*, **19**, 1111-1116.

MELI M, KIPAR A, MÜLLER C, JENAL K, GÖNCZI E, BOREL N *et al.* (2004) High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 69-81.

Nature (Mise à jour en février 2006). *Site du périodique Nature*. [en ligne], [http://www.nature.com/nrmicro/journal/v4/n2/fig_tab/nrmicro1343_F1.html], (consulté le 27 décembre 2007)

NAYLOR MJ, HARRISON GA, MONCKTON RP, McORIST S, LEHRBACH PR, DEANE EM. (2001) Identification of canine Coronavirus strains from feces by S gene nested PCR and molecular characterization of a new australian isolate. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 1036-1041.

NAYLOR MJ, WALIA CS, McORIST S, LEHRBACH PR, DEANE EM, HARRISON GA. (2002) Molecular characterization confirms the presence of a divergent strain of canine Coronavirus (UWSMN-1) in Australia. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 3518-3522.

NUHAM J. (2007) *Contribution à l'étude phylogénétique des Coronavirus infectant les carnivores domestiques*. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°95, 65p.

OLSEN CW, CORAPI WV, NGICHABE CK, BAINES JD, SCOTT FW. (1992) Monoclonal antibodies to the spike protein of feline infectious peritonitis virus mediate antibody-dependent enhancement of infection of feline macrophages. *J. Virol.*, **66**, 956-965.

PALTRINIERI S, CAMMARATA PARODI M, CAMMARATA G. (1999) In vivo diagnosis of feline infectious peritonitis by comparison of protein content, cytology, and direct immunofluorescence test on peritoneal and pleural effusions. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **11**, 358-361.

PALTRINIERI S., PONTI W., COMAZZI S., GIORDANO A., POLI G. (2003). Shifts in circulating lymphocyte subsets in cats with feline infectious peritonitis (FIP) : pathogenic role and diagnostic relevance. *Vet. Immunol. Immunopath.*, **96**, 141-148.

PALTRINIERI S, METZGER C, BATTILANI M, POCACQUA V, GELAIN ME, GIORDANO A. (2007) Serum α 1-acid glycoprotein (AGP) concentration in non-symptomatic cats with feline Coronavirus (FCoV) infection. *J. Feline Med. Surg.*, **9**, 271-277.

PALTRINIERI S, GELAIN ME, CECILIANI F, RIBERA AM, BATTILANI M. (2008) Association between faecal shedding of feline Coronavirus and serum α 1-acid glycoprotein sialylation. *J. Feline Med. Surg.*, **10**, 514-518.

PEDERSEN NC, SATO R, FOLEY JE, POLAND AM. (2004) Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on feline enteric coronavirus. *J. Feline Med. Surg.*, **6**, 83-88.

PEDERSEN NC, ALLEN CE, LYONS LA. (2008) Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J. Feline Med. Surg.*, **10**, 529-541.

PESTEANU-SOMOGYI LD, RADZAI C, PRESSLER BM. (2006) Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *J. Feline Med. Surg.*, **8**, 1-5.

POINDESSAULT SANTA-CROCE S. (2006) *Prophylaxie des infections à Coronavirus félines*. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°7, 63p.

PRATELLI A. (Mise à jour le 29 avril 2005) Canine Coronavirus infection. In : Recent advances in canine infectious diseases, Carmichael L. (Ed.). [en ligne], [www.ivis.org/docarchive/A0105.0405.pdf/advances/Infect_Dis_Carmichael/pratelli/chapter.asp?LA=1], (consulté le 12 décembre 2008).

PRATELLI A. (2006) Genetic evolution of canine coronavirus and recent advances in prophylaxis. *Vet. Res.*, **37**, 191-200.

PRATELLI A. (2008) Canine coronavirus inactivation with physical and chemical agents. *Vet. J.*, **177**, 71-79.

PRATELLI A, MARTELLA V, ELIA G, DECARO N, ALIBERTI A, BUONAVOGLIA D. (2001) Variation of the sequence in the gene encoding for transmembrane protein M of canine coronavirus (CCV). *Molecular and cellular probes*, **15**, 229-233.

PRATELLI A, ELIA G, MARTELLA V, TINELLI A, DECARO N, MARSILIO F *et al.* (2002a) M gene evolution of canine coronavirus in naturally infected dogs. *Vet. Rec.*, **151**, 758-761.

PRATELLI A, TINELLI A, DECARO N, CAMERO M, ELIA G, GENTILE A *et al.* (2002b) PCR assay for the detection and the identification of atypical canine coronavirus in dogs. *J. Virol. Methods*, **106**, 209-213.

PRATELLI A, MARTELLA V, PISTELLO M, ELIA G, DECARO N, BUONAVOGLIA D *et al.* (2003a) Identification of coronaviruses in dogs that segregate separately from the canine coronavirus genotype. *J. Virol. Methods*, **107**, 213-222.

- PRATELLI A, MARTELLA V, DECARO N, TINELLI A, CAMERO M, CIRONE F *et al.* (2003b) Genetic diversity of a canine coronavirus detected in pups with diarrhoea in Italy. *J. Virol. Methods*, **110**, 9-17.
- PRATELLI A, TINELLI A, DECARO N, MARTELLA V, CAMERO M, TEMPESTA M *et al.* (2004) Safety and efficacy of a modified-live canine coronavirus vaccine in dogs. *Vet. Microbiol.*, **99**, 43-49.
- PRIESTNALL SL, BROWNLIE J, DUBOVI EJ, ERLER K. (2006) Serological prevalence of canine respiratory coronavirus. *Vet. Microbiol.*, **115**, 43-53.
- PRIESTNALL SL, PRATELLI A, BROWNLIE J, ERLER K. (2007) Serological prevalence of canine respiratory coronavirus in southern Italy and epidemiological relationship with canine enteric coronavirus. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **19**, 176-180.
- ROTTIER PJM. (1999) The molecular dynamics of feline coronaviruses. *Vet. Microbiol.*, **69**, 117-125.
- ROTTIER PJM, NAKAMURA K, SCHELLEN P, VOLDERS H, HAIJEMA BJ. (2005) Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *J. Virol.*, **79**, 14122-14130.
- RUGGIERI A, DI TRANI L, GATTO I, FRANCO M, VIGNOLO E, BEDINI B *et al.* (2007) Canine coronavirus induces apoptosis in cultured cells. *Vet. Microbiol.*, **121**, 64-72.
- SANCHEZ-MORGADO JM, POYNTER S, MORRIS TH. (2004) Molecular characterization of a virulent canine Coronavirus BGF strain. *Virus Research*, **104**, 27-31.
- SCOTT FW, CORAPI WV, OLSEN CW. (1995a) Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (Cornell experience). *Feline Pract.*, **23**, 74-76.
- SCOTT FW, OLSEN CW, CORAPI WV. (1995b) Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection. *Feline Pract.*, **23**, 77-79.
- SHIBA N, MAEDA K, KATO H, MOCHIZUKI M, IWATA H. (2007) Differentiation of feline coronavirus type I and II infections by virus neutralization test. *Vet. Microbiol.*, **124**, 348-352.
- SIMONS FA, VENNEMA H, ROFINA JE, POL JM, HORZINEK MC, ROTTIER PJM, EGBERINK HF. (2005) A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Virol. Methods*, **124**, 111-116.
- SOMA T, ISHII H. (2004) Detection of feline Coronavirus antibody, feline immunodeficiency virus antibody, and feline leukemia virus antigen in ascites from cats with effusive feline infectious peritonitis. *J. Vet. Med. Sci.*, **66**, 89-90.

SPARKES AH, GRUFFYDD-JONES TJ, HARBOUR DA. (1994) An appraisal of the value of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **30**, 345-350.

TAKANO T, HOHDATSU T, HASHIDA Y, KANEKO Y, TANABE M, KOYAMA H. (2007 a) A "possible" involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.*, **119**, 121-131.

TAKANO T, HOHDATSU T, TODA A, TANABE M, KOYAMA H. (2007 b) TNF-alfa, produced by feline infectious peritonitis virus (FIPV)-infected macrophages, upregulates expression of type II FIPV receptor feline aminopeptidase N in feline macrophages. *Virology*, **364**, 64-72.

TAMMER R, EVENSEN O, LUTZ H, REINACHER M. (1995) Immunohistological demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies. *Vet. Immuno. Immunopathol.*, **49**, 177-182.

THIRY E. (2002) *Virologie clinique du chien et du chat*. Maisons-Alfort : Editions du Point Vétérinaire, 203p.

TIMMANN D, CIZINAUSKAS S, TOMEK A, DOHERR M, VANDEVELDE M, JAGGY A. (2008) Retrospective analysis of seizures associated with feline infectious peritonitis in cats. *J. Feline Med. Surg.*, **10**, 9-15.

TRESNAN DB, LEVIS R, HOLMES KV. (1996) Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine and human Coronaviruses in serogroup I. *J. Virol.*, **70**, 8669-8674.

TURNER JL. (1989) Canine Coronavirus, a case report. *Canine Pract.*, **19**, 13-15.

TUSELL SM, SCHITTONI SA, HOLMES KV. (2007) Mutational analysis of aminopeptidase N, a receptor for several group 1 coronaviruses, identifies key determinants of viral host range. *J. Virol.*, **81**, 1261-1273.

Université de Caroline du Sud (Mise à jour le 10 juillet 2007). *Site de l'université de médecine de Caroline du sud*. [en ligne], [<http://pathmicro.med.sc.edu/virol/coronaviruses.htm>], (consulté le 27 décembre 2007)

VABRET A, DINA J, BRISON E, BROUARD J, FREYMUTH F. (2008) Coronavirus humains (HCoV). *Pathologie Biologie*, article in press.

VAUDOIS THIESSET JG. (2005) *Proposition de réactualisation de la loi sur les vices rédhibitoires chez les carnivores domestiques*. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°117, 121p.

VAUGHN EM, HALBUR PG, PAUL PS. (1995) Sequence comparison of porcine respiratory coronavirus isolates reveals heterogeneity in the S, 3, and 3-1 genes. *J. Virol.*, **69**, 3176-3184.

VENNEMA H, DE GROOT RJ, HARBOUR DA, DALDERUP M, GRUFFYDD-JONES T, HORZINEK MC *et al.* (1990) Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization. *J. Virol.*, **64**, 1407-1409.

VENNEMA H, POLAND A, FOLEY J, PEDERSEN NC. (1998) Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, **243**, 150-157.

VIJGEN L, KEYAERTS E, MOES E, THOELLEN I, WOLLANTS E, LEMEY P *et al.* (2005) Complete genomic sequence of human coronavirus OC43 : molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J. Virol.*, **79**, 1595-1604.

WIKIPEDIA (Mise à jour le 11 septembre 2007). *Site de l'encyclopédie libre wikipedia*. [en ligne], [<http://fr.wikipedia.org/wiki/coronavirus>], (consulté le 27 décembre 2007).

YACHI A, MOCHIZUKI M. (2006) Survey of dogs in Japan for group 2 canine coronavirus infection. *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 2615-2618.

ZAPPULLI V, CALIARI D, CAVICCHIOLI L, TINELLI A, CASTAGNARO M. (2008) Systemic fatal type II coronavirus infection in a dog : pathological findings and immunohistochemistry. *Res. Vet. Sci.*, **84**, 278-282.