ÉCOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT

Année 2008

METHODES DE DEPISTAGE ET DE DIAGNOSTIC DE LA LEUCOSE FELINE

THESE

Pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le

par

Delphine, Marie, Jeanne MEYER

Née le 27 août 1982 à Nancy (Meurthe-et-Moselle)

JURY

Président : M.
Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres
Directeur : Madame Sophie LE PODER
Maître de conférences à l'ENVA
Assesseur : Monsieur Bernard PARAGON
Professeur à l'ENVA

METHODES DE DEPISTAGE ET DE DIAGNOSTIC DE LA LEUCOSE FELINE

NOM et Prénom : MEYER Delphine

Résumé:

La leucose féline, ou infection du chat par le virus leucémogène félin (FeLV), est l'une des principales causes de décès non-accidentels chez le chat.

Les praticiens sont quotidiennement confrontés à des affections qui peuvent être liées à l'infection par le FeLV, et à la nécessité de faire un diagnostic fiable et précoce de l'infection. Du fait du grand nombre d'affections liées directement ou indirectement à l'infection par le FeLV, de l'évolution de l'infection, et de l'existence de formes atypiques, il peut être difficile de diagnostiquer l'infection.

Outre les chats symptomatiques qui doivent être testés, le dépistage chez les chats sains est recommandé et très fréquemment réalisé afin de détecter les porteurs du FeLV. Les tests de dépistage doivent également être aussi fiables que possible.

C'est pourquoi de nombreux tests ont été développés depuis des années, basés sur la détection du virus, des antigènes ou des acides nucléiques viraux. Les praticiens doivent connaître quels sont les tests les plus indiqués dans chaque cas, que ce soit pour un diagnostic ou un dépistage.

Mots clés: RETROVIRUS, FELV, VIRUS LEUCÉMOGÈNE FÉLIN, LEUCOSE, DIAGNOSTIC, DÉPISTAGE, CARNIVORE, CHAT

Jury :
Président : Pr.
Directeur : Dr. S. LE PODER
Assesseur : Pr. B. PARAGON

Adresse de l'auteur :
28 rue Eugène Renault
94700 Maisons-Alfort

SCREENING AND DIAGNOSIS METHODES OF FELINE LEUKEMIA

SURNAME : MEYER
Given name : Delphine

Summary:

Feline leukemia, or infection of cats by feline leukemia virus (FeLV), is one of the most common causes of non-accidental deaths in cats.

Practitioners are daily confronted to FeLV-possibly-related diseases, and to the necessity of making a reliable and early diagnosis. Because of the large number of diseases that are either directly or indirectly caused by FeLV, the course of the infection, and the existence of atypical forms, infection could be difficult to diagnose.

Besides symptomatic cats that should be tested for FeLV infection, screening of healthy cats is recommanded and often performed to detect carriers. Screening tests must also be as accurate as possible.

That's why many tests have been developped for years, based on virus, antigen or viral nucleic acids detection. Practitioners have to know which ones are the most appropriate in each case, either for diagnosis or screening.

Keywords : RETROVIRUS, FELV, FELINE LEUKEMIA VIRUS, DIAGNOSIS, SCREENING, CARNIVORE, CAT

Jury :
President : Pr.
Director : Dr. S. LE PODER
Assessor : Pr. B. PARAGON

Author’s address:
28 rue Eugène Renault
94700 Maisons-Alfort

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION..... 7

PREMIERE PARTIE
L'INFECTION PAR LE VIRUS LEUCEMOGENE FELIN
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE..... 9

A. Virologie.....9
1. Classification du virus leucémogène félin (FeLV)..... 9
2. Caractéristiques du virus..... 9
a. Morphologie et structure..... 9
b. Génome viral.....11
c. Protéines virales et cellulaires.....12
d. Sous groupes viraux..... 13
3. Réplication virale 14

B. Épidémiologie de la leucose féline..... 16
1. Prévalence..... 16
a. Influence de l'état de santé de la population étudiée.....16
b. Influence de la densité de population 17
c. Influence des sorties à l'extérieur 17
d. Influence du sexe.....18
e. Influence de l'élevage en chatteries, chats de race.....18
f. Différences selon les pays.....18
g. Diminution globale de la prévalence.....19
2. Sources de virus 19
3. Modes de transmission du virus..... 19
a. Transmission horizontale.....19
b. Transmission verticale..... 19
4. Facteurs de réceptivité et résistances à l'infection.....20
a. Age 20
b. Expositions au virus.....20
c. Réponse immunitaire..... 21
d. Déficiences du système immunitaire..... 21

C. Pathogénie.....22
1. Stades de l'infection..... 22
2. Issues de l'infection..... 23
a. Animaux régresseurs, immuns..... 25
b. Animaux régresseurs, porteurs latents du virus..... 25
c. Animaux progresseurs..... 25
d. Infections atypiques, séquestrées ou localisées.....25
e. Mesure de la charge provirale et nouvelles issues de l'infection.....25
3. Latence et réactivation virale..... 27
a. Mise en évidence de l'état de latence.....27
b. Issues de l'infection latente.....27
c. Affections liées aux infections latentes 28

d. Transmission 29
4. Pathogénies particulières aux sous-groupes viraux....29

D. Signes cliniques....29
1. Affections tumorales 30
a. Lymphosarcomes] 30
b. Atteintes des lignées myéloïdes et lymphoïdes....32
c. FeSV et fibrosarcomes....33
d. Autres tumeurs 33
2. Affections hématologiques non tumorales.... 33
a. Anémies....33
b. Aplasie médullaire 35
c. Immunodéficience....35
3. Affections non tumorales du système immunitaire 35
a. Affections à médiation immune....35
b. Immunodéficience....35
c. Affections secondaires à l'immunodéficience.... 36
4. Autres symptômes 37
a. Adénomégalie....37
b. Troubles de la reproduction....37
c. Syndrome de dépérissement du chaton....37
d. Cachexie....37
e. Syndrome « panleucopénie-like » et entérites 38
f. Neuropathies....38
g. Affections oculaires non tumorales....39
h. Troubles cutanés.... 39

E. Prophylaxie....40
1. Vaccination.... 40
a. Importance et principe.... 40
b. Vaccins disponibles.... 40
d. Réactions indésirables....43
e. Limites....43
2. Prophylaxie passive.... 44
a. Principes généraux.... 44
b. Prophylaxie en élevage félin 44
c. Prophylaxie en milieu hospitalier....45

F. Traitements 45
1. Traitement des affections liées au FeLV.... 45
a. Principes généraux.... 45
b. Traitement des infections secondaires à l'immunodéficience....45
c. Traitement des affections médullaires et/ou à médiation immune....46
d. Traitement des lymphomes et des leucémies.... 47
2. Traitements antiviraux.... 48
a. Chimiothérapie antivirale.... 48
b. Immunothérapie....48

G. L'infection par le FeLV, vice rédhibitoire: aspects légaux.... 49
1. Généralités 49
2. Définition du vice rédhibitoire.... 50
3. Délais.... 50

a. Délai de rédhibition..... 50
b. Délai de suspicion.....50
4. Critères de suspicion 50
5. Discussion..... 51
a. Caractère caché.....51
b. Gravité 51
c. Antériorité à la vente et délais.....51

SECONDE PARTIE:
METHODES DE DIAGNOSTIC ET DE DEPISTAGE
DE L'INFECTION PAR LE FeLV DISPONIBLES..... 53

A. Présentation des différentes méthodes..... 53
1. Mise en évidence du virus..... 53
a. Observation du virus.....53
b. Isolement du virus.....53
2. Détection d'Ag intracellulaires: immunofluorescence indirecte..... 54
a. Principe 54
b. Prélèvements nécessaires.....56
2. Détection d'Ag libres circulants: immunomigration et Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)..... 56
a. Immunomigration rapide 56
b. ELISA 58
3. La PCR..... 59
a. Principe..... 59
b. Étapes de la PCR classique..... 60
c. PCR particulières..... 63
e. Prélèvements nécessaires 64
5. Détection d'anticorps..... 64

B. Performances des différentes méthodes..... 65
1. Évolution de la maladie, positivité des tests, et notion de tests discordants... 65
a. Lors des différents stades de l'infection.....65
b. Lors des différentes issues de l'infection..... 67
c. Résultats des tests et interprétation.....70
2. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative.....71
a. Définitions et interprétation..... 71
b. Valeurs pour chaque méthode.....73
c. Études comparatives des tests rapides..... 73
3. Facteurs influant sur les performances des tests.....75
a. Nature du prélèvement..... 75
b. Conservation et transport du prélèvement.....76
c. Respect du protocole de réalisation du test.....77
d. Qualités intrinsèques du test.....78
4. Origines des faux positifs et faux négatifs..... 79

C. Interprétation des résultats des tests.....81
1. Recherche du virus..... 81
2. Recherche d'antigènes 81
a. IFA: antigènes intracellulaires.....81
b. Tests ELISA et immunomigration: antigènes circulants..... 83
3. PCR..... 85

4. Recherche d'anticorps..... 85

D. Avantages et limites de chaque méthode..... 86
1. Isolement viral 86
2. Immunofluorescence..... 87
3. ELISA et immunomigration..... 88
4. PCR ou RT-PCR..... 88

TROISIEME PARTIE:
DEPISTAGE, DIAGNOSTIC ET CONDUITE A TENIR EN PRATIQUE QUOTIDIENNE..... 91

A. Tests disponibles en pratique quotidienne.....91
1. Tests réalisables à la clinique..... 91
a. Tests rapides basés sur l'immunomigration.....92
b. Tests ELISA.....92
2. Tests réalisables en laboratoire 93

B. Dépistage de l'infection par le FeLV..... 93
1. Indications et candidats au dépistage..... 93
a. Pourquoi dépister l'infection par le FeLV ?..... 93
b. Quand dépister ?..... 94
2. Tests utilisables en pratique quotidienne pour le dépistage 95
a. Quel test choisir en première intention ? 95
b. Choix raisonné entre tests rapides et RT-PCR.....95
3. Conduite à tenir pour dépister efficacement l'infection.....96
a. Réalisations de tests rapides et algorithmes décisionnels..... 96
b. Interprétation de tests successifs..... 98
c. Protocoles de dépistage et d'assainissement en effectifs.....99

C. Diagnostic de l'infection par le FeLV..... 99
1. Indications du test face à un chat malade..... 100
a. Quand suspecter une infection par le FeLV ?..... 100
b. Pourquoi diagnostiquer l'infection ?.....101
2. Tests utilisables 101
3. Interprétation des tests rapides..... 102

D. Conduite à tenir face à un chat infecté par le FeLV..... 102
1. Prise en charge du chat infecté asymptomatique..... 102
a. Mesures à prendre à domicile.....102
b. Contrôles vétérinaires 103
c. Traitements prophylactiques.....103
2. Prise en charge du chat infecté symptomatique..... 104
a. Détermination du lien entre symptômes et infection par le FeLV..... 104
b. Traitement des affections liées au FeLV..... 104
3. Mesures de protection des congénères..... 104
4. Aspect légal: cession d'un chat infecté par le FeLV 105

CONCLUSION..... 107

TABLEAUX, FIGURES ET ANNEXES

TABLEAUX

Tableau 1: Classification des Retroviridae..... 10
Tableau 2: Pourcentage de chats testés positifs selon le nombre de chats dans le foyer..... 17
Tableau 3: Pourcentage de chats malades et testés positifs parmi les chats sortant à l'extérieur ou n'y ayant pas accès..... 18
Tableau 4: Pourcentage de chats malades testés positifs parmi chaque sexe 18
Tableau 5: pourcentage de chats malades, FeLV positifs et coinfectés par le FIV..... 22
Tableau 6: Catégories possibles de chats après infection expérimentale de chats vaccinés ou non vaccinés..... 26
Tableau 7: Maladies liées à l'immunodéficience due au FeLV et agents responsables 36
Tableau 8: Principales caractéristiques des vaccins contre le FeLV disponibles en France 42
Tableau 9: Statut théorique des chats en fonction des résultats de l'isolement viral, de l'immunofluorescence et de l'ELISA..... 70
Tableau 10: Évaluation de la valeur prédictive positive d'un test en fonction de diverses prévalences..... 72
Tableau 11: Résultats des évaluations des performances de 3 tests rapides par 2 études..... 74
Tableau 12: Origines des faux positifs et faux négatifs lors de la réalisation des tests..... 80
Tableau 13: Interprétation des résultats lors de recherche d'anticorps sériques ou de p27. 86
Tableau 14: Choix entre tests rapides et PCR dans diverses situations de dépistage 96
Tableau 15: Affections engendrées par le virus leucémogène félin..... 100
Tableau 16: Pourcentage de chats infectés parmi les chats souffrant de certains lymphosarcomes..... 101
Tableau 17: Choix des tests rapides ou de la RT-PCR dans diverses situations de diagnostic..... 101
Tableau 18: Interprétation des résultats d'un test rapide et conduite à tenir dans une situation de diagnostic..... 102

FIGURES

Figure 1: Structure du FeLV..... 10
Figure 2: Étapes de la réplication..... 15
Figure 3: Bourgeonnement viral..... 16
Figure 4: Issues de l'infection..... 24
Figure 5: Origines des anémies liées à l'infection par le FeLV.....34
Figure 6: Principe de l'immunofluorescence indirecte..... 55
Figure 7: Immunofluorescence de plaquettes et de globules blancs contenant p27 sur un frottis sanguin de chat infecté..... 55
Figure 8: Principe de l'immunomigration..... 57
Figure 9: Principe de l'ELISA..... 58
Figure 10: Principe de la PCR classique..... 62
Figure 11: Hybridation de sondes fluorescentes lors de réalisation de PCR quantitative ou temps réel..... 63
Figure 12: Positivité de tests en fonction des différents stades de l'infection.....66
Figure 13: Cinétique des résultats des tests ELISA et d'immunofluorescence lors de virémie transitoire..... 67
Figure 14: Cinétique des résultats des tests ELISA et d'immunofluorescence lors de virémie persistante..... 69
Figure 15: Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test IFA..... 82
Figure 16: Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test ELISA..... 84
Figure 17: Conduite à tenir suite à la réalisation d'un test rapide.....97
Figure 18: Conduite à tenir suite à un test rapide positif dans un contexte d'infection possible..... 98

ANNEXES

Annexe 1: Protocole de réalisation du test Witness FeLV.....121
Annexe 2: Protocole de réalisation du test Speed FeLV..... 123
Annexe 3: Protocole de réalisation du test Snap FeLV Idexx..... 125

INTRODUCTION

Le virus leucémogène félin, ou FeLV, a été découvert en 1964. Depuis, il a été montré que ce virus est à l'origine de très nombreuses affections chez le chat, et pas seulement de leucémie. Bien que des programmes de dépistage, ainsi que la vaccination aient permis de diminuer la prévalence de cette maladie, elle demeure l'une des causes principales de mortalité non-accidentelle chez le chat, et le praticien doit fréquemment rechercher l'infection par le FeLV chez des chats malades. De même, des dépistages de l'infection sont très fréquemment effectués, dans des effectifs ou avant une vaccination.

De très nombreux tests, y compris réalisables à la clinique, ont été développés pour dépister ou diagnostiquer l'infection par le FeLV, mais le praticien est souvent confronté à des difficultés quant au choix du test à utiliser, à leurs performances, et à l'interprétation des résultats.

Cette thèse rappelle tout d'abord les principales caractéristiques de l'infection, et notamment la pathogénie, point clé lors du choix de la méthode de dépistage ou de diagnostic. Une seconde partie présente les méthodes de dépistage et de diagnostic disponibles, et une troisième partie propose des conduites à tenir en pratique quotidienne, dans toutes les situations de diagnostic ou de dépistage auxquelles le praticien peut être confronté.

PREMIERE PARTIE
L'INFECTION PAR LE VIRUS LEUCEMOGENE FELIN
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

A. Virologie

1. Classification du virus leucémogène félin (FeLV)

Le virus leucémogène félin ou FeLV appartient à la famille des *Retroviridae*. C'est la présence d'une enzyme particulière, la transcriptase reverse, qui a donné son nom à cette famille: la transcriptase reverse a pour particularité de pouvoir transformer l'acide ribonucléique viral (ARN viral) en acide désoxyribonucléique (ADN), donc dans le sens inverse (« retro ») du flux normal de l'information génétique [78].

Parmi les *Retroviridae*, 7 genres sont distingués [82], rapportés dans le tableau 1.

Le FeLV a d'autre part la capacité à entraîner des transformations malignes des cellules infectées (lymphosarcomes, leucémies...): il s'agit d'un oncornavirus, appartenant à la sous-famille des *oncornavirinae*.

2. Caractéristiques du virus

a. Morphologie et structure [20,77, 78, 82]

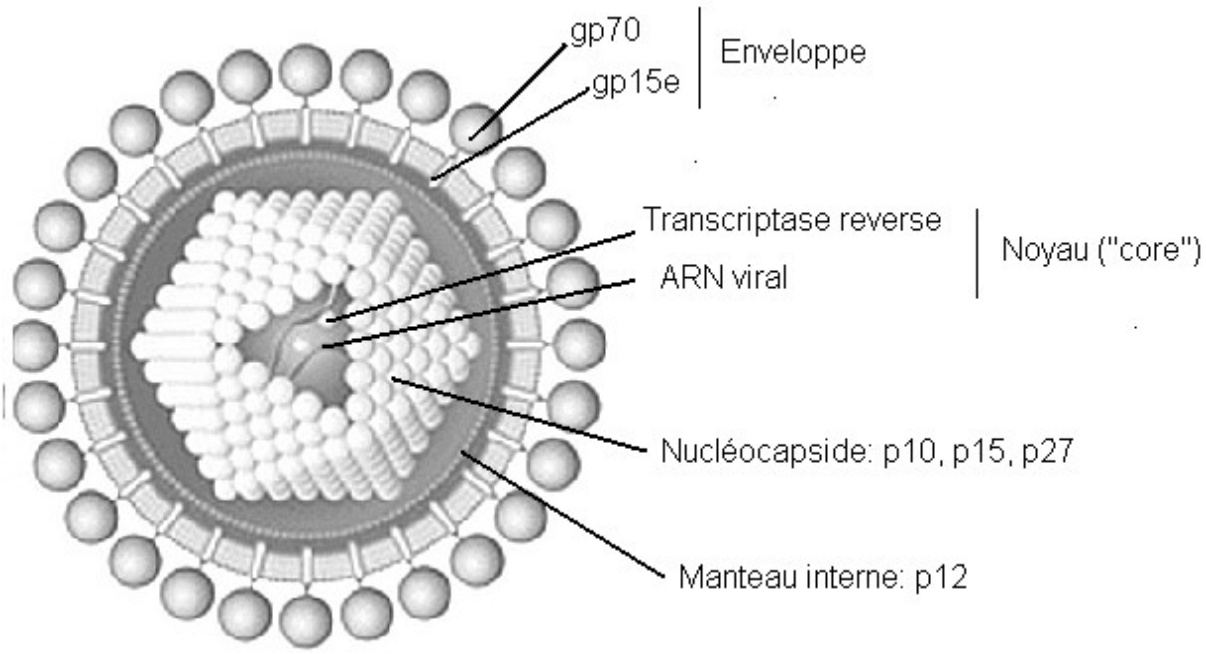
Le FeLV est un virus enveloppé, de forme arrondie, de 80 à 125nm de diamètre. Il est constitué de 3 parties: la nucléocapside, un manteau interne et une enveloppe externe.

Cette structure est représentée sur la figure 1.

Tableau 1: Classification des Retroviridae (d'après [82])

Genres	Exemples
Alpharetrovirus:	virus leucémogènes et sarcomatogènes aviaires de type C
Betaretrovirus	virus des mammifères de type B et D: - virus de l'adénocarcinome pulmonaire ovin (Jaagsiekte), - virus des tumeurs mammaires de la souris (MMTV), - virus Mason-Pfizer (MPMV)
Deltaretrovirus	- virus de la leucémie T de l'humain (HTLV) - virus de la leucose bovine enzootique (BLV)
Gammaretrovirus	virus des mammifères et reptiles de type C: - virus leucémogène félin (FeLV) - virus sarcomatogène félin (FeSV) - virus responsable de la réticuloendothéliose aviaire
Epsilonretrovirus:	virus de poissons
Lentivirus	- virus de l'immunodéficience humaine (HIV) - virus de l'immunodéficience féline (FIV) - virus de l'immunodéficience bovine (BIV) - virus du Visna Maedi - virus de l'arthrite Encéphalite Caprine (CAEV) - virus de l'anémie Infectieuse des Equidés (EIAV)
Spumavirus	- virus foamy humain (HFV) - virus foamy félin (FSV), non pathogènes

Figure 1: structure du FeLV (d'après [82])



► *La nucléocapside*

La nucléocapside d'environ 60 nm de diamètre, comporte en son centre le « noyau » viral (ou « core »), composé d'acide ribonucléique (ARN) viral, simple brin, hermétiquement enroulé, et de la reverse-transcriptase (RT). Cette reverse-transcriptase agit comme une ADN(acide désoxyribonucléique)-polymérase ARN-dépendante, une ADN-polymérase ADN-dépendante, une intégrase et une RNase. Chaque fonction est assurée par une partie différente de la protéine.

La protection du matériel génétique contre les nucléases est assurée par une capside hexagonale, formée de 3 protéines, de poids moléculaires de 10, 15 et 27 kdalton, dénommées respectivement p10, p15 et p27.

► *Le manteau*

Un manteau interne, formé de la protéine acide p12, recouvre la nucléocapside.

► *L'enveloppe virale externe*

L'enveloppe virale, provenant en partie de la cellule hôte, est constituée de lipides et de protéines glycosylées en forme de petites sphères; disposées tout autour du virus. Ces glycoprotéines, appelées gp70, constituent l'antigène majeur d'enveloppe. L'ancrage de la gp70 sur la membrane se fait via des ponts disulfures sur la protéine gp15e transmembranaire. La gp70 est désignée sous le terme de « external surface glycoprotein » ou « SU », tandis que la gp15e est appelée « transmembrane protein » ou « TM » [92].

b. Génome viral

Le virion contient 2 molécules d'ARN identiques.

Les différentes unités du virion sont codées par les régions *gag pol* et *env*, en position centrale dans l'ARN viral. Le gène *gag* (group-specific antigen) code pour les protéines du « noyau » (core): p10, p15, p12, p27; le gène *pol* pour la reverse-transcriptase/polymérase, et le gène *env* pour les protéines de l'enveloppe, gp70 et gp15e. [30]

L'ARN génomique peut être transcrit en ADN grâce à la reverse transcriptase. Cet ADN viral intégré à l'ADN de la cellule hôte est le provirus. Les protéines virales sont alors synthétisées par transcription classique de l'ADN cellulaire, en ARN puis en protéines.

c. Protéines virales et cellulaires

► *Glycoprotéine gp70 antigène majeur d'enveloppe*

La glycoprotéine gp70 (poids moléculaire 70kdalton) constitue l'antigène majeur d'enveloppe. Présente à la surface du virion, elle a des rôles primordiaux:
- permet l'entrée du virus dans les cellules
- induit la formation d'anticorps séroneutralisants (anticorps SN)
- à l'origine du pouvoir pathogène.

La gp70 contient des zones particulières, notamment la petite région variable VR1, qui définissent les 3 sous-groupes viraux (FeLV-A, -B et -C, exposés plus loin), et d'autres zones qui induisent la formation d'anticorps neutralisants [92].

Afin de pouvoir pénétrer dans une cellule, le virion doit se lier aux récepteurs cellulaires, et ce grâce aux antigènes viraux superficiels, donc la gp70. Elle constitue la zone d'interaction initiale entre le virus et la cellule hôte [92]. En cas de destruction ou d'altération de la gp70 par des agents physiques (UV, chaleur, dessiccation...) ou chimiques (détergents...), l'infectivité du virus est très diminuée, voir détruite [78].

La réponse anticorps de l'organisme est dirigée contre les épitopes portés par la gp70; ces anticorps séroneutralisants vont masquer les sites de la gp70, empêchant la liaison virus-cellule, et donc l'infectivité.

Le pouvoir pathogène lié à la gp70 est illustré par le fait que les différents sous-groupes du FeLV, dûs au polymorphisme de la gp70, sont à l'origine de maladies très différentes les unes des autres.

► *Protéine p15e: antigène mineur d'enveloppe*

Cette protéine joue un rôle primordial dans l'immunodépression entraînée par l'infection au FeLV. Elle déprime l'activité des lymphocytes T helper, empêchant le passage de la réponse précoce IgM vers IgG [78].

La p15e est aussi capable de s'associer au premier composant du complément et d'activer la voie classique. L'hypocomplémentémie qui en résulte empêche le fonctionnement des processus de virolyse [30].

La réceptivité des cellules à l'interleukine 2 est également diminuée par la p15e [30].

► *Protéine p27: protéine majeure de la nucléocapside*

La protéine p27, ou antigène spécifique de groupe, est la protéine majeure de la nucléocapside. La dénomination « antigène spécifique de groupe » vient du fait que cette protéine est le support d'une réaction antigénique croisée entre toutes les souches de FeLV. Cette propriété est utilisée dans les tests de détection qui se basent sur la recherche de l'antigène p27 (Immunodiffusion, immunofluorescence,

ELISA).

Lors de la réplication virale, cette protéine est produite en excès, et libérée dans le milieu extracellulaire (sang, liquides d'épanchements...).

L'état antigénémique correspond à la mise en évidence de l'antigène p27 dans le sang par méthode ELISA.

Lorsque l'antigène p27 est mis en évidence dans les neutrophiles et les plaquettes circulants par immunofluorescence, le virus est également isolé dans le sang dans 98% des cas. La détection d'Ag p27 par immunofluorescence permet donc de définir un état virémique.

Enfin, la protéine p27 forme des complexes immuns avec les immunoglobulines G, inhibant la réponse immune [21], et ces immuns complexes peuvent s'accumuler dans les glomérules rénaux, conduisant à des glomérulonéphrites.

► *L'antigène FOCMA (Feline Oncornavirus associated Cell Membrane Antigen)*

Cet antigène est mis en évidence à la surface des cellules hématopoïétiques et lymphoïdes ayant subi une transformation maligne suite à l'infection par le FeLV. Tandis que la gp70 est exprimée à la surface des cellules infectées mais non transformées, les cellules transformées mais non productives expriment uniquement le FOCMA, qui peut donc être considéré comme un marqueur de la transformation tumorale

Les anticorps anti-FOCMA jouent un rôle important dans l'immunosurveillance anti-tumeurs [77, 78].

d. Sous groupes viraux [78]

La structure polymorphe de la glycoprotéine d'enveloppe gp70 permet de distinguer 3 sous-groupes de FeLV, aux propriétés biologiques différentes.

► *Sous-groupe A*

Le sous groupe A est celui qui est le plus souvent isolé chez les chats infectés spontanément (50% des chats infectés par le FeLV le sont par le FeLV-A seul) [54]. Lorsqu'un seul sous-groupe est identifié chez un chat, il s'agit de ce sous-groupe. C'est également le sérotype qui se réplique avec les titres les plus forts.

La présence du FeLV-A semble nécessaire pour que les autres souches manifestent leur pathogénie: des expériences montrent que tous les recombinants contenant le gène env du sérotype A sont pathogènes, tandis que ceux contenant uniquement les gènes env des autres sérotypes ne le sont pas.

► *Sous-groupe B*

Le sous groupe B n'est isolé qu'associé au sous-groupe A, dont il augmente

la pathogénicité. 49% des chats sont infectés par les sous-groupes A et B [54]. Il ne se réplique qu'avec des titres faibles, et la virémie est retardée par rapport à la virémie due au FeLV-A.

Il est issu de recombinaisons entre le FeLV-A et les séquences FeLV endogènes de l'hôte, et est donc très variable antigéniquement. Plusieurs mécanismes de transformation existent: insertion d'un oncogène viral dans le génome cellulaire, ou augmentation de la transcription d'un oncogène cellulaire à proximité duquel le génome viral s'est inséré.

Dans le premier cas, un oncogène viral (v-onc) est inséré dans le génome cellulaire lors de l'infection virale. Cet oncogène viral a un homologue cellulaire, c-onc, qui régule la croissance cellulaire et la différenciation. Suite à l'insertion de v-onc, cette régulation de la croissance cellulaire est altérée.

Dans le second cas, les séquences promotrices/régulatrices du génome viral augmentent la transcription d'un oncogène cellulaire.

► *Sous-groupe C*

Le sous-groupe C est le plus rare, et est toujours associé au sous-groupes A ou A et B: seuls 1% des chats sont infectés par les sous-groupes A et C, ou A,B et C [54]. C'est également le seul sous-type capable de se répliquer sur des cellules de chien, d'homme ou de cobaye.

Une mutation ponctuelle dans la protéine d'enveloppe du FeLV-A est à l'origine du FeLV-C.

3. Réplication virale [24, 82, 106]

L'interaction entre les glycoprotéines virales et des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire conduit à la fusion des membranes virale et cellulaire et permet l'entrée du « noyau » viral, libéré de l'enveloppe dans la cellule.

L'ARN viral est alors transcrit en ADN viral sous l'action de la transcriptase reverse, toujours au sein du noyau. Cet ADN à un brin est terminé par une séquence « longue répétition terminale » (ou LTR, Long Terminal Repeat) à chaque extrémité; grâce à l'ADN polymérase, un second brin est synthétisé, puis les LTR se rejoignent et l'ADN double brin prend une forme circulaire. La capside disparaît, et l'ADN double brin migre vers le noyau pour s'intégrer à l'ADN cellulaire sous forme de provirus.

Cette intégration ne peut se faire qu'au sein des cellules qui synthétisent de l'ADN, donc des cellules en mitose active.

Le provirus est donc la séquence d'ADN double brin d'origine virale intégrée au génome de la cellule infectée.

Deux possibilités s'offrent alors au provirus: soit rester à l'état quiescent dans la cellule, soit faire produire à la cellule d'autres virus.

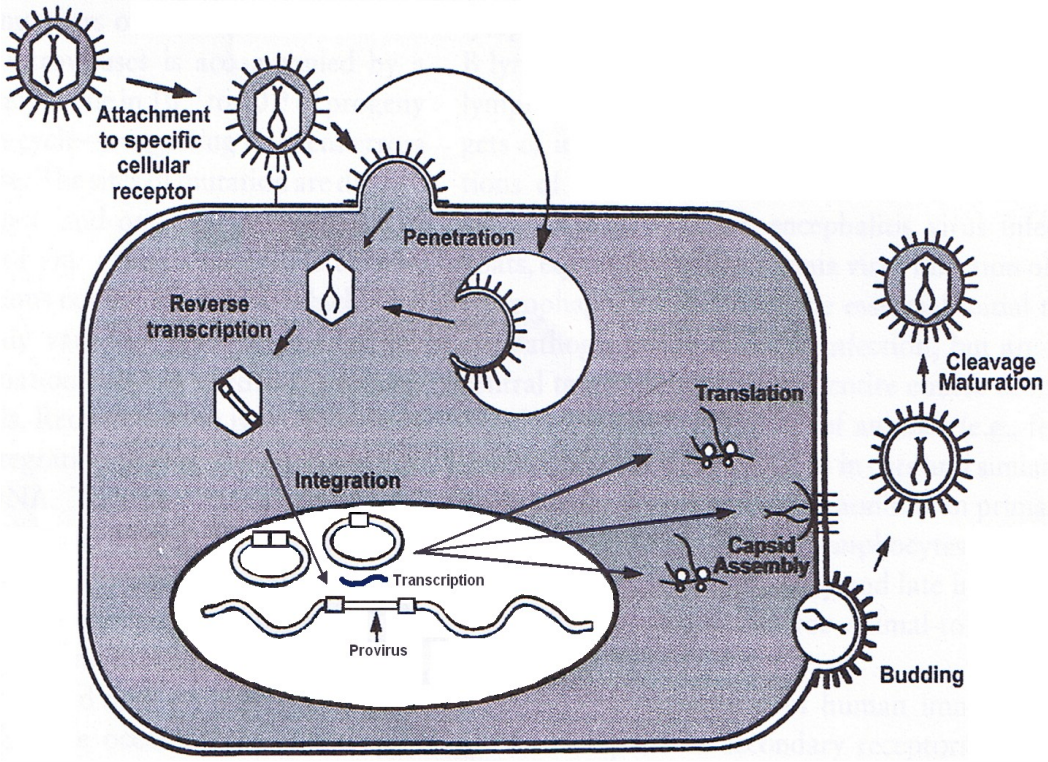
Lorsque le provirus n'est pas à l'état quiescent, l'ARN polymérase cellulaire transcrit l'ADN proviral en ARN viral et en ARN messagers.

Un grand ARN messager porte les gènes *gag* et *pol*; sa traduction donne un

grand polypeptide, qui, une fois scindé, donnera les protéines de structure et la transcriptase inverse. Les précurseurs des protéines d'enveloppe sont issus d'un autre ARNm, issu du gène *env*. Ces précurseurs sont glycosylés au cours de leur passage dans les citernes du réticulum endoplasmique granuleux et l'appareil de Golgi, lors de leur maturation, puis s'ancrent dans la membrane plasmatique. La nucléocapside s'organise par assemblement de l'ARN viral et des précurseurs des protéines codées par *pol* et *gag*.

Le virus acquiert ensuite son enveloppe lors de son exocytose, par bourgeonnement de la membrane plasmique (« budding »). L'ensemble de ces étapes est schématisé sur la figure 2.

Figure 2: Étapes de la réplication (d'après [82])

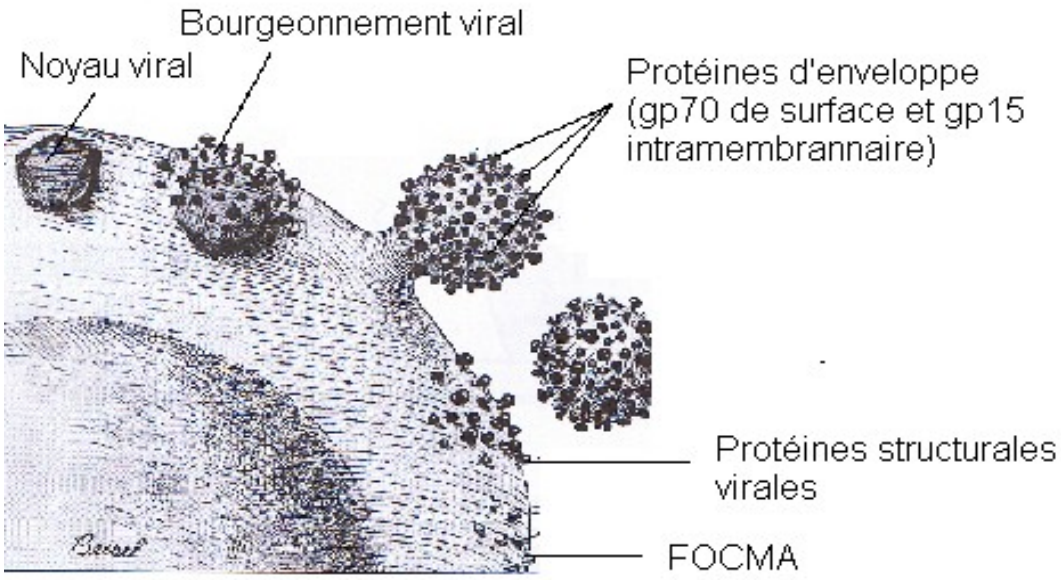


L'aspect du virus bourgeonnant à la surface de la cellule est caractéristique des rétrovirus de type C en microscopie électronique, comme représenté sur la figure 3.

Un clivage des polyprotéines se produit alors, et de nouveaux virions sont alors libérés.

Lors de mitose de cellule infectée, les cellules filles seront elles aussi porteuses de provirus [77].

Figure 3: Bourgeonnement viral (d'après [34])



B. Épidémiologie de la leucose féline

1. Prévalence

Le virus leucémogène félin est retrouvé dans le monde entier.

L'incidence de l'infection varie selon la population étudiée. Les facteurs influant sur l'incidence sont l'état de santé de la population, la densité de la population, le mode de vie des chats, le sexe.

En Europe, l'incidence moyenne est aux alentours de 10%, mais varie énormément, de 0 à 16%, selon la population étudiée [35].

L'incidence moyenne diminue depuis plusieurs années, et parfois considérablement dans certaines populations (chats de race, en élevage), grâce à la vaccination.

Les résultats de tests réalisés sur plus de 50000 chats malades dans plusieurs pays par plus de 3000 praticiens sont rapportés dans les tableaux 2, 3, 4 et 5 [12]

a. Influence de l'état de santé de la population étudiée

Dans une population cliniquement saine, on retrouve des antigènes FeLV chez environ 5% des chats, mais de 11,3 à 19,4% [30], voir 21% [65] à 30,4% [1], dans une population de chats malades.

Pour certaines maladies, souvent associées au FeLV, les taux de chats infectés sont encore plus élevés (75% des chats présentant un lymphome ou une leucémie myéloïde sont infectés par le FeLV, 32% des chats à péritonite infectieuse féline). Ces taux tendent cependant à diminuer, la prévalence globale du FeLV diminuant également [65].

b. Influence de la densité de population

Étant donné les modes de transmission et la contagiosité du virus, les espaces confinés et une population féline dense vont favoriser des incidences d'infection élevées. Les pourcentages de chats positifs parmi des chats symptomatiques selon le nombre de chats dans le foyer sont rapportés dans le tableau 2

Tableau 2: Pourcentage de chats testés positifs selon le nombre de chats dans le foyer (d'après [12])

Nombre de chats dans le foyer	États Unis	France	Royaume Uni	Allemagne	Italie
1	12.2 %	16.7 %	15.9 %	13.3 %	9.1 %
2 à 5	13.5 %	20.3 %	19.3 %	13.1 %	10.0 %
plus de 6	16.1 %	59.7 %	14.3 %	49.6 %	16.8 %

Ainsi, généralement, lorsque le nombre de chats dans le foyer augmente, l'incidence de l'infection augmente.

C'est la raison pour laquelle, avant la mise en place de protocoles de dépistage et d'assainissement des chatteries, les chats de race étaient plus touchés que les autres. Il ne s'agissait pas d'une sensibilité plus élevée [20].

c. Influence des sorties à l'extérieur

Les sorties à l'extérieur vont favoriser les infections, par contact direct ou indirect avec des chats inconnus éventuellement excréteurs du virus, tandis que les chats ne vivant qu'en appartement ne peuvent être contaminés que par les autres chats du foyer, dont le statut vis à vis du FeLV peut être connu, et les risques de transmission maîtrisés.

Cette différence de prévalence est illustrée par le tableau 3

Tableau 3: Pourcentage de chats malades et testés positifs parmi les chats sortant à l'extérieur ou n'y ayant pas accès (d'après [12])

% de chats malades et FeLV positifs parmi les...	États Unis	France	Royaume Uni	Allemagne	Italie
chats qui sortent	29.6 %	45.6 %	52.1 %	34.2 %	28.3 %
chats d'intérieur	12.2 %	9.8 %	2.3 %	10.0 %	6.9 %

Le pourcentage de chats FeLV positifs parmi les chats malades est systématiquement beaucoup plus élevé chez les chats ayant accès à l'extérieur que chez les chats d'intérieur.

d. Influence du sexe

Il apparaît que le pourcentage de chats mâles infectés dans la publication sus-citée est systématiquement plus élevé que le pourcentage de chats femelles, comme rapporté dans le tableau 4.

Tableau 4: Pourcentage de chats malades testés positifs parmi chaque sexe (d'après [12])

	États-unis	France	Royaume Uni	Allemagne	Italie
Mâles	15 %	20,7 %	18,6 %	14,9 %	13,8 %
Femelles	11 %	17 %	17,3 %	12,2 %	9,7 %

Ces résultats sont retrouvés dans plusieurs études, mais ce n'est pas systématique [48].

Le mode de vie moins sédentaire des mâles par rapport aux femelles les expose plus aux possibilités d'infections [78].

e. Influence de l'élevage en chatteries, chats de race

Grâce à une politique de dépistage et d'assainissement des chatteries, la prévalence de l'infection a beaucoup diminué parmi les chats de race. Ainsi, de 35% d'Abyssins FeLV-positifs en Grande Bretagne en 1980, on est passé à 0% en 2000 [53].

f. Différences selon les pays

D'importantes variations de prévalences sont notées cependant selon les pays (1,2% de chats FeLV positifs en Norvège, 2% à Sydney, 18% en Italie...), probablement dûs aux différences socioculturelles, qui influent sur l'origine des

chats, leur mode de vie et les possibilités de contact entre chats non infectés et chats infectés [1].

g. Diminution globale de la prévalence

La prévalence du FeLV a chuté ces 20 dernières années en Europe; ainsi, en Grande Bretagne, en 1990, 5% des chats asymptomatiques étaient infectés, contre 0,5% actuellement. Selon les études du Dr Jarrett, la prévalence était de 12% en 1980, contre 2% en 2000 [53].

2. Sources de virus

Le virus est retrouvé dans la salive (jusqu'à 1 million de particules infectieuses/ml) [3, 70, 77, 78, 95], les urines, les larmes, les fecès, le lait, les sécrétions trachéales, et le sang, chez les chats virémiques. En cas de virémie intermittente, le virus est excrété aux périodes virémiques [73].

Le virus est cependant très sensible à la chaleur, à la dessiccation, aux détergents, aux désinfectants, aux UV, et est rapidement inactivé (3 à 4 heures à l'air ambiant) [77, 103].

3. Modes de transmission du virus

a. Transmission horizontale

La transmission horizontale directe se fait donc lors de léchages (partage des gamelles, toilettage mutuel) [13, 68], de morsures [35], de griffures, de partage des litières, lors d'effraction sanguine (instruments médicaux non stérilisés, les transfusions sanguines ou les greffes de tissus.

La salive se négativant rapidement à température ambiante, la transmission horizontale indirecte est peu probable [13]

b. Transmission verticale

La transmission verticale, de la mère aux chatons, existe. L'infection *in utero* aboutit cependant la plupart du temps à des résorptions embryonnaires, des avortements, ou des morts-nés; lorsque les chatons naissent non infectés, ils peuvent l'être via le lait, et se positivent les uns après les autres. Les 20% de chatons qui survivent aux premières semaines deviendront des adultes infectés persistants [65]. La transmission verticale est cependant peu fréquente, au vu des difficultés de reproduction des chattes infectées [13].

La transmission du virus via les gamètes, par intégration de son génome à

celui des gamètes, n'a jamais été prouvée.

4. Facteurs de réceptivité et résistances à l'infection.

L'âge, la souche virale, la voie de contamination, la dose et le temps d'exposition au virus influent sur la réceptivité à l'infection [31, 68], ainsi que la qualité du système immunitaire du chat [68].

a. Age

Les chatons sont plus sensibles que les adultes: expérimentalement, une dose standard de virus qui infecte 100% de chatons de 8 semaines non immunisés, n'infecte que 15 à 20% des chatons de 6 mois [53].

En fonction de l'âge:

- les nouveaux nés exposés sont tous infectés [13, 68].
- les chatons infectés entre 6 et 8 semaines développent une infection persistante pour 70 à 85% d'entre eux [68]. D'après Moraillon, l'infection de chatons de moins de 8 semaines conduit à des affections mortelles pour 85 à 100% d'entre eux [77]
- les chatons de plus de 16 semaines ont les taux d'infections persistantes les plus faibles [68], de l'ordre de 15 à 30% [13]. Ils s'immunisent après infection naturelle [77]

Les chatons ayant hérité d'une immunité passive via leur mère ne sont pas sensibles à l'infection avant l'âge de 7 à 8 semaines [77]. La période sensible pour des chats non immunisés semble se situer entre 1,5 et 4 mois d'âge.

Les risques sont à nouveau majorés chez les chats âgés de plus de 7 ans [77].

b. Expositions au virus

Les doses virales, la voie d'entrée du virus, le type viral, la fréquence d'exposition vont également avoir un effet significatif sur la persistance ou l'élimination de l'infection virale [68].

Les effets des doses virales sont illustrés par le fait que les chats vivant en collectivité (notamment les chats de race), souvent exposés, développent des infections chroniques; ceux isolés s'immunisent au contraire.

Aux États-Unis, il a été montré que la prévalence en anticorps anti-FeLV est liée au temps passé à l'extérieur et au contact d'autres chats: 63% et 47% des chats testés à Boston et Detroit, pouvant sortir, ont des anticorps, tandis que seuls 5% des chats new-yorkais, confinés, en ont [65].

Au vu des taux d'anticorps, il apparaît que l'exposition au virus augmente avec l'âge, mais que la sensibilité à l'infection diminue parallèlement.

Les chats infectés via une morsure ont plus de risque de devenir virémiques persistants que ceux infectés par voie oro-nasale [13].

Après avoir guéri d'une infection naturelle au FeLV, les chats seraient résistants à une nouvelle infection pendant au moins 3 ans [53].

c. Réponse immunitaire

La réponse immunitaire classique intervient dans la lutte contre l'infection par le FeLV, mais d'autres mécanismes spécifiques se mettent en place.

Des anticorps neutralisants (ou anticorps séroneutralisants, AgSN) se développent, dirigés contre des antigènes spécifiques de l'enveloppe du FeLV, la gp70 et gp15e. Le rôle des anticorps séroneutralisants est de masquer les sites spécifiques de la gp70, nécessaires à la liaison avec les cellules à infecter. L'inhibition de ces sites permet d'éviter l'infection de la cellule [68].

Une étude a mis en évidence un lien entre charge provirale, taux d'anticorps, et issues de l'infection. Il a tout d'abord été mis en évidence que la charge provirale initiale pouvait être liée à l'issue de l'infection: les chats infectés persistants présentent, 4 semaines après l'infection, un pic de provirus élevé, tandis que les chats antigénémiques transitoires ont un pic moins élevé, et que les chats non antigénémiques ne présentent pas de pic de provirus [105].

Des différences dans la réponse immune entre les chats progresseurs et les chats régresseurs apparaissent 3 semaines après l'exposition au virus, et coïncident avec l'apparition de différences dans la charge provirale. Les chats à antigénémie faible montrent une réponse immune plus élevée et une charge provirale plus faible que les chats à antigénémie élevée. Ainsi, un chat capable de limiter le pic initial de provirus peut également être capable d'éliminer l'infection, et ce via une réponse immunitaire efficace [45].

d. Déficiences du système immunitaire

La co-infection par le FIV touche jusqu'à plus de 25% des chats FeLV positifs et symptomatiques, comme rapporté par l'étude sus-citée, dont les résultats sont consignés dans le tableau 5.

Tableau 5: pourcentage de chats malades, FeLV positifs et coinfectés par le FIV (d'après [12])

	France	Italie	Royaume Uni	Allemagne	États-unis	Autriche
Nombre de chats testés	9951	1631	4878	6101	27 976	400
% de chats FeLV positifs seulement	19.4 %	12.2 %	18 %	13.4 %	13.3 %	14.2 %
% de chats FIV et FeLV positifs	4.3 %	4.2 %	0.7 %	2.1 %	1.5 %	1 %
% de chats FeLV positifs co-infectés par le FIV	18 %	25.6 %	3.7 %	13.5 %	10.1 %	6.5 %

La co-infection par le FIV peut tout particulièrement majorer les symptômes induits par le FeLV [30], tout comme une autre infection concomitante à l'exposition au FeLV peut favoriser l'infection [68].

L'utilisation de médicaments immunosuppresseurs, notamment les corticoïdes, facilitent également l'infection [68].

C. Pathogénie

1. Stades de l'infection [68, 78, 94]

Grâce à la mise en évidence du virus sur des coupes d'organes réalisées à des délais variables suite à une infection expérimentale, six stades de l'infection ont pu être mis en évidence :

► stade 1:

Suite au contact oro-nasal, le virus entre dans l'organisme et se réplique dans les amygdales et les tissus lymphoïdes locaux, puis les ganglions de la tête et du cou, 2 à 4 jours après l'infection.

► stade 2

Environ 14 jours après le contact infectant, il y a multiplication virale dans les lymphocytes et monocytes circulants. La virémie est très faible à ce stade. Les cellules infectées circulantes permettent au virus d'atteindre les sites de

multiplication secondaires (moelle osseuse, thymus, rate, intestins, noeuds lymphatiques). Cette intégration aux leucocytes permet au virus d'échapper aux processus d'élimination par les cellules réticuloendothéliales.

► stade 3

Les tissus lymphoïdes sont atteints (rate, noeuds lymphatiques, plaques de Peyer de l'intestin ou GALT), et une seconde réplication virale a lieu dans les lymphocytes B de ces tissus. A ce stade, certains chats à réponse immunitaire (SN et FOCMA) suffisante peuvent encore éliminer le virus. Quand au contraire il y a amplification virale, la moelle osseuse sera touchée par la suite.

► stade 4

2 à 6 semaines après le contact infectant, les mégacaryocytes et les cellules granulopoïétiques de la moelle sont atteints.

► stade 5

4 à 6 semaines après le contact infectant, la moelle infectée libère des polynucléaires neutrophiles et des plaquettes infectés, qui peuvent alors être détectés par immunofluorescence. Lorsque la virémie médullaire est installée, le chat devient généralement infecté permanent. Parallèlement, des foyers infectieux sont retrouvés dans les cellules des cryptes intestinales, qui bien que non détruites, assurent mal leurs fonctions. L'antigène viral est détectable dans le sérum, les neutrophiles et les plaquettes.

► stade 6

en l'absence de réponse séroneutralisante et d'anticorps FOCMA, l'infection s'étend aux épithéliums glandulaires et muqueux, particulièrement aux glandes salivaires, pancréas, appareil respiratoire, vessie, reins, tissus mammaire). Il y a alors excrétion dans les mucus, sécrétions (salive, lait...), émonctoires (selles, urines...).

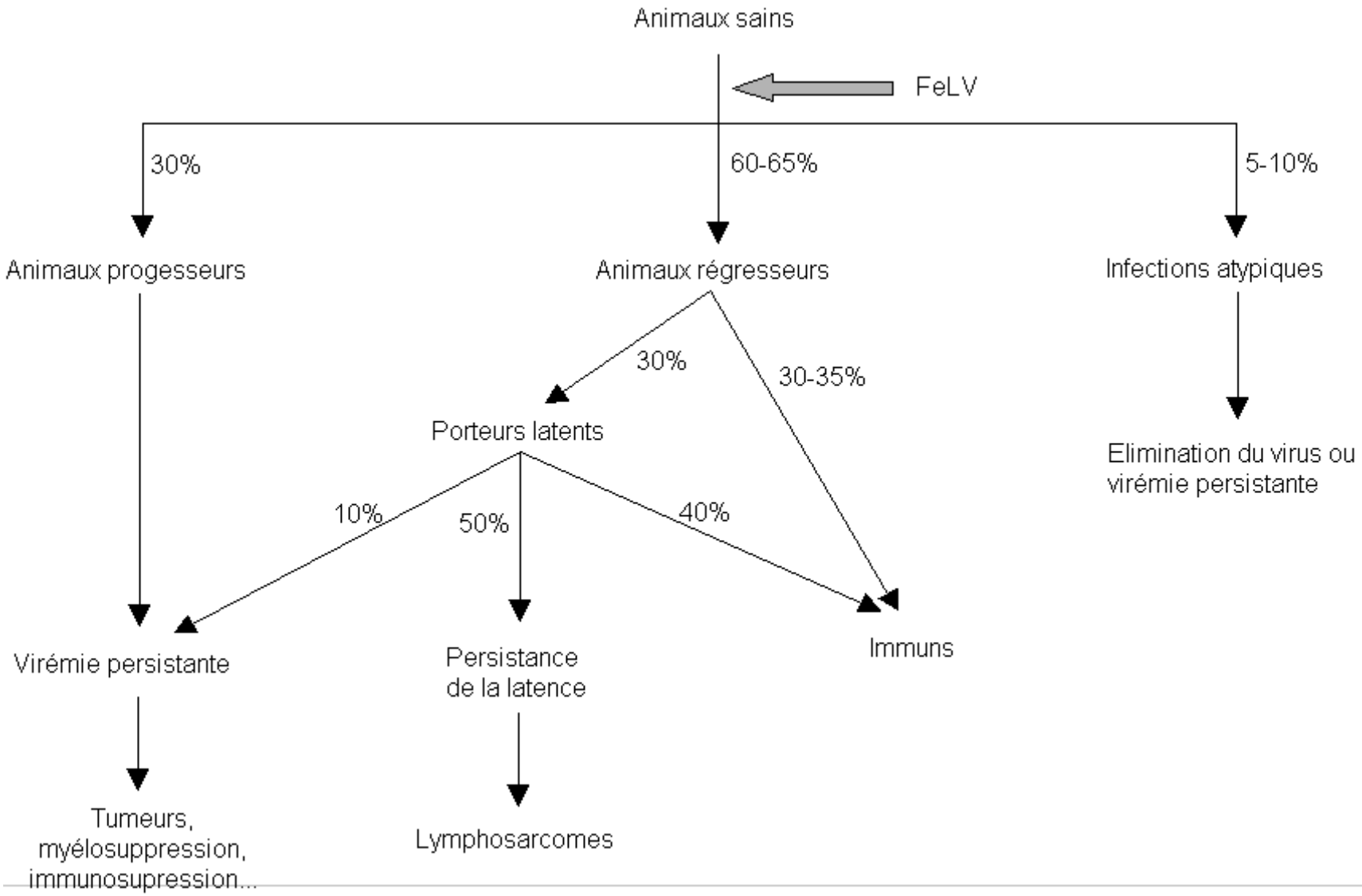
2. Issues de l'infection [78]

Suite à l'infection, 4 issues sont possibles, et dépendent du type de virus, de la dose virale, de la durée d'exposition au virus, de l'âge du chat, et bien entendu de la qualité de la réponse immunitaire [30]. Les différentes issues sont représentées sur la figure 4.

Cette classification est basée sur l'antigénémie et la virémie, qui ont été les premières méthodes permettant la mise en évidence de l'infection.

L'utilisation récente de techniques de PCR, permettant la mise en évidence de matériel génétique viral et la quantification de la charge provirale modifie ces 4 catégories, détaillées plus bas.

Figure 4: Issues possibles de l'infection par le virus leucémogène félin (d'après [68])



a. Animaux régresseurs, immuns

Les animaux régresseurs sont ceux qui présentent une réponse immunitaire rapide et efficace, capable d'éliminer le virus en 4 à 8 semaines après l'infection, et de rendre le chat résistant à une infection ultérieure. En général, on ne peut pas mettre en évidence d'antigénémie, mais les titres en anticorps sont élevés. Parfois, cette immunité protectrice ne se met en place qu'après une infection de la moelle, et le chat présente une virémie transitoire, de quelques jours à semaines [99].

b. Animaux régresseurs, porteurs latents du virus

Environ 30% des chats deviennent des porteurs latents du virus: ils présentent une virémie transitoire, ne présentent pas de signe de maladie aiguë, mais le virus est présent à l'état quiescent dans la moelle osseuse.

La notion de latence et de réactivation sera détaillée ci-dessous.

c. Animaux progresseurs

Les animaux progresseurs, environ 30%, sont virémiques persistants. Ils n'ont pas de défenses immunitaires suffisantes, et sont infectés chroniques. En général, les chats toujours virémiques 16 semaines après l'infection sont des chats progresseurs. 95% d'entre eux développent des maladies liées au FeLV dans les 3 à 36 mois suivant l'infection [53], leur espérance moyenne de vie est de 21 mois, et 80% décèdent dans les 3 ans. Ces chats sont également excréteurs, et disséminent le virus.

d. Infections atypiques, séquestrées ou localisées

Enfin, 5 à 10% des chats présentent une infection atypique, limitée à quelques organes (tractus gastro-intestinal, noeuds lymphatiques, rate, moelle osseuse, tissu mammaire, vessie...), en raison d'une réponse immunitaire partielle. La virémie et l'antigénémie sont intermittentes, et l'infection évolue soit vers une virémie persistante, soit vers une élimination [30, 42, 68, 99].

Ces animaux posent encore question quant aux conséquences des infections localisées, non seulement pour eux-mêmes (développement de maladies liées au FeLV) mais aussi pour les chats en contact, en servant de réservoirs au virus. Ainsi, une infection localisée au tissu mammaire a permis la transmission du FeLV d'une chatte à ses chatons via le lait [42, 84].

e. Mesure de la charge provirale et nouvelles issues de l'infection

L'utilisation de PCR-temps réel quantitative a permis de mettre en évidence

de très petites quantités de matériel génétique viral et de quantifier la charge provirale. Une étude propose le suivi à court (8 semaines après l'infection expérimentale) et long terme (jusqu'à 3 ans après l'infection) de chats répartis en 3 groupes: 10 chats vaccinés avec un vaccin mis sur le marché, le Fel-O-Vax Lv-K® Fort Dodge Animal Health (vaccin A), 15 avec un vaccin expérimental inactivé adjuvé (vaccin B), et 10 non vaccinés. L'infection expérimentale était réalisée par voie oro-nasale. L'antigène p27 est recherché dans le sang par technique ELISA, et le provirus par PCR temps-réel sur le sang, avant l'infection puis toutes les 2 semaines jusqu'à 8 semaines après l'infection.

Quatre issues d'infection, basées sur l'antigénémie et la charge provirale, sont définies:

- les infections abortives se traduisent par une absence d'antigènes et de provirus détectables; c'est le cas pour 5 animaux dans cette étude
- six chats ne sont pas antigénémiques, mais présentent des charges provirales transitoires, ou persistantes faibles, dans les 8 semaines post-infection. Ces chats présentent une infection régressive.
- une antigénémie transitoire, associée à des charges virales modérées et persistantes, est mise en évidence chez 3 chats non vaccinés. Ces animaux sont qualifiés d'infectés latents.
- enfin, les chats infectés persistants présentent une antigénémie persistante, ainsi que des charges provirales élevées et persistantes. Ceci concerne 21 chats.

L'ensemble de ces résultats est indiqué dans le tableau 6:

Tableau 6: Catégories possibles de chats après infection expérimentale de chats vaccinés ou non vaccinés (d'après [105])

	Catégories				Total
Infection...	Abortive	Régressive	Latente	Progressive	
	Provirus - Antigènes -	Provirus + Antigènes -	Provirus ++ Ag + → -	Provirus +++ Ag -	
Vaccin A	4	5	0	1	10
Vaccin B	1	1	0	13	15
Non vaccinés	0	0	3	7	10
Total	5	6	3	21	

Vaccin A: Fel-O-Vax Lv-K® Fort Dodge Animal Health
Vaccin B: vaccin expérimental, inactivé adjuvé

L'utilisation de la PCR a ainsi permis de mettre en évidence des chats infectés mais non antigénémiques, et de définir de nouvelles catégories basées sur la présence ou l'absence d'antigénémie, et sur la quantification de la charge provirale.

Un suivi à long terme a été possible pour 13 de ces chats. Des prélèvements histologiques variés ont été réalisés (moelle osseuse, rate, noeuds lymphatiques mésentériques, ainsi que thymus, amygdales, noeuds lymphatiques rétropharyngés

pour les 5 chats vaccinés avec le vaccin A), et l'ADN viral recherché sur ces tissus, tout comme dans les monocytes et lymphocytes. L'antigène p27 est toujours recherché sur sérum par technique ELISA.

Concernant les chats à infection abortive, 2 ans après l'épreuve infectieuse, il n'est toujours pas possible de mettre en évidence d'antigènes, ni de provirus dans le sang ou d'ADN viral sur les prélèvements histologiques. Ces chats ne peuvent donc pas, sur ces analyses, être différentiés de chats n'ayant pas rencontré le virus.

Les chats à infection régressive sont étudiés près de 2 ans après l'infection: on ne met en évidence ni antigènes, ni provirus dans le sang de ces chats, mais les chats vaccinés avec le vaccin B présentent de faibles quantités d'ADN viral dans les tissus analysés. Ce n'est pas le cas des chats vaccinés avec le vaccin A.

Trois ans après l'infection, les chats infectés latents sont antigénémiques, et de l'ADN viral est mis en évidence dans les tissus.

Les chats à infection progressive sont toujours antigénémiques, et leurs charges provirales restent élevées 3 à 3,5 ans après l'infection.

Même s'il est probable que des passages d'une catégorie à une autre soit possible au cours de l'évolution de l'infection, il semble que l'issue de l'infection soit prédéterminée à 8 semaines après l'infection. Dans les quelques cas suivis plusieurs années, la relation « hote-virus » a été stable pendant environ 3 ans [47, 105].

3. Latence et réactivation virale

a. Mise en évidence de l'état de latence

Après infection, une virémie peut être mise en évidence pendant quelques jours à semaines, puis disparaît. Cependant, 30% des chats ayant été infectés restent porteurs du virus dans leur moelle osseuse, sous forme latente (jusqu'à 60% avec certaines souches de FeLV [86]: le génome viral est toujours présent, mais il n'y a pas ou peu de production de particules virales (Elisa et IF négatives).

Cet état de latence a été mis en évidence par cultures *in vitro* de cellules de moelle osseuse de chats régresseurs. Cette technique *in vitro* permet d'éliminer les défenses de l'hôte: en culture, du virus apparaît, issu de ces cellules de moelles osseuses.

Des expériences de cultures cellulaires (privant les cellules de défenses immunitaires donc) montrent que 80% des chats semblant avoir régressé après une infection expérimentale sont en réalité porteurs latents [96]; une autre étude donne le chiffre de 9 chats porteurs latents sur 16 cas [72].

b. Issues de l'infection latente

► Élimination

Chez 40% des chats infectés latents, cette infection est éliminée en quelques

mois. Après une infection expérimentale, 6 à 8 mois ont été nécessaires [86]. Après infection naturelle, la période durant laquelle la proportion d'infectés latents diminue le plus est comprise entre 36 et 64 semaines après l'infection [83]. L'élimination des cellules infectées se fait tout d'abord du sang, puis des autres tissus réservoirs, et enfin de la moelle osseuse.

► Persistance

Chez 50% des chats, l'infection latente peut persister plusieurs mois voire plusieurs années.

► Réactivation virale

10% des infections latentes vont être réactivées naturellement: celle ci a lieu dans les premiers mois après la disparition initiale de la virémie [86].

Un traitement par glucocorticoïdes (Acétate de méthylprednisolone, 10mg/kg, 1 fois par semaine pendant 4 semaines) de chats régresseurs provoque une réactivation de l'infection: sur un panel de 49 chats régresseurs, non virémiques depuis 2 à 12 semaines lors du début du traitement, 7 chats ont à nouveau présenté une virémie, et 2 d'entre eux une virémie persistante [86].

En pratique cependant, la réactivation des infections par traitement glucocorticoïdes est peu fréquente, d'une part parce que la période post-virémique durant laquelle une infection latente peut être réactivée est transitoire, et d'autre part parce que la plupart des souches de FeLV sont plus difficiles à réactiver que celle utilisée dans l'étude (Rickard-FeLV) [86]. Les posologies d'acétate de méthylprednisolone utilisées en pratique sont également moins élevées (environ 4mg/kg) que celles de l'étude.

Le stress peut également réactiver des infections latentes [78].

c. Affections liées aux infections latentes

Une étude a mis en évidence des tumeurs hématopoïétiques chez 2 chats non virémiques, mais chez lequel le virus a pu être retrouvé dans la moelle osseuse [96]. Chez les chats présentant des tumeurs hématopoïétiques mais chez lequel le virus n'est pas détecté dans le sang, on peut donc suspecter l'implication du FeLV à l'état latent dans le développement de la tumeur [72].

L'existence des infections latentes pourrait expliquer les délais d'incubation très élevés observés parfois, les virémies récidivantes ou intermittentes, les états antigénémiques, certains lymphosarcomes ou leucémies de chats FeLV négatifs par les tests de diagnostic basés sur la recherche de l'antigénémie sanguine, ainsi que la naissance de chatons infectés issus de chattes FeLV négatives à ces mêmes tests.

d. Transmission

Une étude ne met pas en évidence de transmission du virus d'un chat infecté latent à des chatons en contact intime, pendant 8 mois consécutifs [72].

Par contre, des chattes infectées latentes peuvent donner naissance à des chatons infectés [86].

4. Pathogénies particulières aux sous-groupes viraux

Chez le chaton, le sous groupe A est responsable d'anémie transitoire, de lymphomes et de leucémies après une latence longue. Chez l'adulte, on note une virémie transitoire. Le sous-groupe A est le groupe le moins pathogène, mais il est le plus fréquemment associé aux infections latentes, et demande un long délai avant d'être à l'origine de maladies.

Le sous-groupe B est responsable de désordres myéloprolifératifs et de désordres immunosuppresseurs ou myélosuppresseurs. Les désordres myéloprolifératifs sont illustrés par le fait que le FeLV est un virus « helper », qui associé aux proto-oncogènes « fes » des fibroblastes est à l'origine du virus du sarcome félin (Feline Sarcoma Virus, ou FeSV) hautement transformant. La myélosuppression est mise en évidence lors de cultures simultanées de cellules de moelle osseuse et de FeLV-B: les cellules de moelle osseuse sont détruites.

Le sous-groupe C infecte les nouveaux-nés, ainsi que les chats déjà virémiques par le FeLV-A. Il est à l'origine d'hypoplasies ou d'aplasies de la lignée rouge, provoquant une anémie sévère. La latence est longue, le FeLV-C ayant une réplication défective, les formes virales libres n'apparaissent dans le plasma que tardivement.

D. Signes cliniques

Les chats qui développent la maladie ont des symptômes très variés.

Durant la première phase de l'infection, les symptômes sont généralement frustres, et peu souvent détectés.

Les principaux symptômes apparaissent des mois ou des années plus tard, chez les chats à virémie persistante. Certaines affections sont directement liées à l'action du virus, d'autres secondaires aux désordres immunitaires.

Les plus fréquemment retrouvés sont: une hyperthermie, une anorexie, une perte de poids, une anémie, un abattement, des troubles respiratoires, des gingivo-stomatites, une adénopathie [48].

1. Affections tumorales

Le FeLV étant un oncovirus, il va être à l'origine de diverses tumeurs chez le chat: des tumeurs lymphoïdes, des désordres myéloprolifératifs, ainsi que des fibrosarcomes, par association avec le FeSV.

L'induction d'une tumeur peut être expliquée par l'intégration du génome viral dans le génome cellulaire, à proximité d'un oncogène cellulaire (généralement « myc »), qui aboutit à l'activation et à la surexpression de ce gène. L'absence de réponse immune permet la transformation maligne.

Le FeLV-A peut également incorporer un oncogène (v-onc) pour former un virus recombinant, par exemple le FeLV-B ou le FeSV.

a. Lymphosarcomes [13, 35, 78, 103]

Ces tumeurs vont apparaître chez 15 à 20% des chats infectés par le FeLV.

► *Lymphosarcomes thymiques*

Les lymphomes thymiques se localisent aux thymus. Ils apparaissent chez les chats jeunes, chatons et chats de moins de 4 ans en général, l'âge moyen est de 2,5 ans [103]. Les lymphomes thymiques métastasent facilement vers le tissus lymphoïde régional, et hors de la cage thoracique. Le thymus occupe alors une grande partie du médiastin cranial, et déplace voir entoure le coeur. Un épanchement pleural est parfois également présent, à l'origine de dyspnée aiguë et de cyanose. 80 à 90% des chats présentant un lymphome thymique sont infectés par le FeLV.

► *Lymphosarcomes du ganglion médiastinal*

L'atteinte du ganglion médiastinal peut se traduire par des troubles respiratoires essentiellement: dyspnée, toux, discordance en cas d'épanchement associé. Une dysphagie et des troubles neurologiques (syndrome de Claude Bernard Horner par paralysie de l'innervation oculaire en région thoracique, modification de la voix par compression du nerf laryngé récurrent).

La palpation du thorax cranial permet parfois de mettre en évidence une masse. Les radiographies du thorax de face et de profil pourront montrer une modification de la position et de la forme du médiastin, un déplacement cranial de la trachée, une radiodensité suggérant l'existence d'une masse. Outre les cytoponctions de l'éventuel épanchement pleural et l'analyse cytologique, une biopsie de cette masse peut être réalisée sous guidage échographique pour déterminer la nature de cette masse [43, 80].

► *Lymphosarcomes digestifs*

Les lymphosarcomes digestifs touchent plutôt les chats âgés, mais seuls 25%

à 30% d'entre eux sont FeLV positifs. Ils peuvent affecter les parois digestives, en général l'intestin grêle, le caecum, le côlon, les ganglions mésentériques, mais également, bien que plus rarement l'estomac, le foie, le rectum ou les reins [103]. Certains auteurs font du lymphosarcome rénal une entité isolée des lymphosarcomes digestifs, étant donné la fréquence élevée de ce lymphosarcome [111].

► *Lymphosarcomes multicentriques*

Les lymphosarcomes multicentriques touchent principalement les chats âgés d'environ 4 ans, et sont associés dans 60 à 80% des cas avec le FeLV. Ils atteignent tout d'abord les tissus lymphoïdes de divers organes, et se traduisent par des atteintes telles qu'adénopathie généralisée, abattement, anorexie, anémie, hépato- et splénomégalie, atteinte rénale... Des lymphocytes anormaux sont également souvent mis en évidence dans le sang de ces chats.

► *Autres lymphosarcomes*

Ces lymphosarcomes sont rencontrés plus rarement. Il touchent des tissus non-lymphoïdes, tels que la peau, les yeux, le système nerveux [103], le foie, le coeur, les ovaires [111]. Les lymphosarcomes oculaires et nerveux sont généralement associés à l'infection par le FeLV, contrairement aux lymphosarcomes rénaux et dermiques.

Les chats à lymphosarcomes nerveux présentent des symptômes neurologiques variés, en fonction des localisations tumorales. La parésie partielle, l'hyperesthésie focale et une ataxie rapidement progressive sont très souvent retrouvées. Ce type de lymphosarcomes touche les jeunes chats [62].

Les lymphosarcomes oculaires évoluent seuls, ou associés à d'autres maladies liées au FeLV. Les tumeurs les plus fréquentes chez le chat touchent en général le globe oculaire (cornée, iris, corps ciliaire), les annexes de l'oeil (conjonctive, membrane nictitante), ou l'orbite [35].

Les lymphosarcomes oculaires peuvent se traduire par une uvéite antérieure ou postérieure (avec synéchies, effet Tyndall, déformations de la pupille, décollement rétinien), des glaucomes, des kératites [64, 110].

Les lymphosarcomes intraoculaires apparaissent comme un épaississement focal ou diffus de l'iris, prenant naissance à sa périphérie ou derrière l'iris, dans le corps ciliaire. Les lésions ont une couleur « chair », et un aspect « velouté ». Une anisocorie ou une dyscorie peut être présente, secondaire à l'infiltration tumorale de l'iris, qui limite la mobilité pupillaire. Un glaucome peut apparaître, suite à une uvéite ou à la tumeur intraoculaire.

Les lymphosarcomes cornéens se présentent comme des masses rosées, vascularisées, s'étendant sur la cornée, avec un aspect au début de l'évolution parfois semblable aux lésions de kératite éosinophilique.

Les lymphosarcomes orbitaires peuvent se traduire par une exophtalmie, une procidence de la membrane nictitante, et une kératite d'exposition [110].

Une énucléation est nécessaire, le diagnostic de lymphosarcome se fait à

l'analyse histologique, et le diagnostic étiologique par PCR par exemple.

Une étude rapporte un cas de lymphome cutané chez un chat [23]: le chat présentait, outre de nombreuses lésions ulcérées, nodulaires, sur la face, les membres et l'abdomen, une altération de l'état général, une anémie, une lymphopénie, une hyperthermie. L'analyse histologique des lésions cutanées a posé le diagnostic de lymphome cutané, et la recherche d'antigène p27 et de génome viral dans les prélèvements cutanés s'est révélée positive. La recherche d'antigènes p27 sanguins était négative par contre.

Moins d'un tiers des chats à lymphosarcomes vont avoir des cellules lymphoïdes anomales dans leur sang (c'est à dire, une leucémie associée). La leucémie peut être associée à toutes les formes de lymphosarcomes solides, mais est plus fréquemment retrouvée dans les lymphomes multicentriques [35].

L'analyse histologique des tumeurs lymphoïdes montre une grande variété de cellules, depuis les lymphoblastes immatures aux lymphocytes matures. Il est d'autre part possible de différencier les tumeurs des lymphocytes B et des lymphocytes T, ces dernières étant les plus courantes. Les lymphomes thymiques sont par exemple issus des lymphocytes T, tandis que les lymphomes digestifs des lymphocytes B. Les lymphomes multicentriques semblent avoir une origine moins différenciée [35].

b. Atteintes des lignées myéloïdes et lymphoïdes

La réplication du virus peut affecter les lignées myéloïdes, conduisant à des syndromes myéloprolifératifs,également appelés leucémies myéloïdes. Différentes lignées cellulaires peuvent être atteintes: monoblastes, monocytes, progranulocytes, érythrocytes et mégacaryocytes.

On distingue 6 types de syndromes myéloprolifératifs, selon les lignées cellulaires affectées [20, 97]:

- leucémie myéloïde: il s'agit d'une prolifération tumorale de granulocytes et de leurs précurseurs immédiats. On retrouve un fort pourcentage de myéloblastes et/ou de promyélocytes neutrophiles dans le sang, peu ou pas de granulocytes neutrophiles murs, une numération leucocytaire élevée.
- réticuloendothéliose: il y a prolifération des cellules hématopoïétiques médullaire indifférenciées. Il s'agit en fait d'une leucémie des cellules souches.
- érythroleucémie: la prolifération tumorale cellulaire intéresse à la fois les cellules érythroblastiques et les cellules myéloblastiques.
- myélose érythrémique: il y a prolifération des érythroblastes. L'examen du sang montre une anémie sévère avec leucémie érythroblastique isolée, pure.
- leucémie mégacaryocytaire: il s'agit de la prolifération tumorale des mégacaryocytes, éléments médullaires précurseurs des thrombocytes.
- myélofibrose: prolifération des fibroblastes. Dans les cas les plus graves, l'envahissement de la moelle osseuse est quasiment complet.

Lors d'atteinte des lignées lymphoïdes, le virus est a l'origine de leucémie lymphoïde: il y a prolifération sanguine et ostéomédullaire de lymphoblastes ou de

prolymphocytes tumoraux. Des leucocytes anomaux ou immatures (blastiques) peuvent être mis en évidence dans le sang et dans la moelle osseuse. Ce cas est rare, les tumeurs lymphoïdes sont le plus fréquemment « solides », siégeant dans un organe [43, 76, 78].

c. FeSV et fibrosarcomes

Certains fibrosarcomes félins sont dûs à un virus, le virus du sarcome félin (FeSV). Comme il l'a été évoqué précédemment, ce virus est issu du FeLV, par acquisition d'un gène oncogène (v-onc) cellulaire par transduction, et délétion d'une partie du génome (mutant défectif). Il est incapable de réplication autonome, et requiert la présence d'un FeLV « helper » pour se répliquer [78]. Les fibrosarcomes à FeSV ne sont donc retrouvés que chez les chats infectés persistants par le FeLV.

Les fibrosarcomes dus au FeSV touchent les chats jeunes (1-7 ans) et se présentent comme des tumeurs multiples ulcéreuses ou nodulaires, tandis que les autres fibrosarcomes atteignent plutôt les chats âgés, sous la forme d'une tumeur isolée [103].

Des métastases peuvent intervenir en phase terminale.

d. Autres tumeurs

Des ostéochondromes ont été décrits chez les chats infectés, avec une prévalence plus élevée que chez les chats sains; même bénins, ces ostéochondromes peuvent être à l'origine de mortalité, si leur localisation provoque des troubles graves (compressions médullaires...) [34].

Des neuroblastomes olfactifs ont été mis en évidence, avec présence de virus bourgeonnant dans les tissus tumoraux et les noeuds lymphatiques métastasés [34].

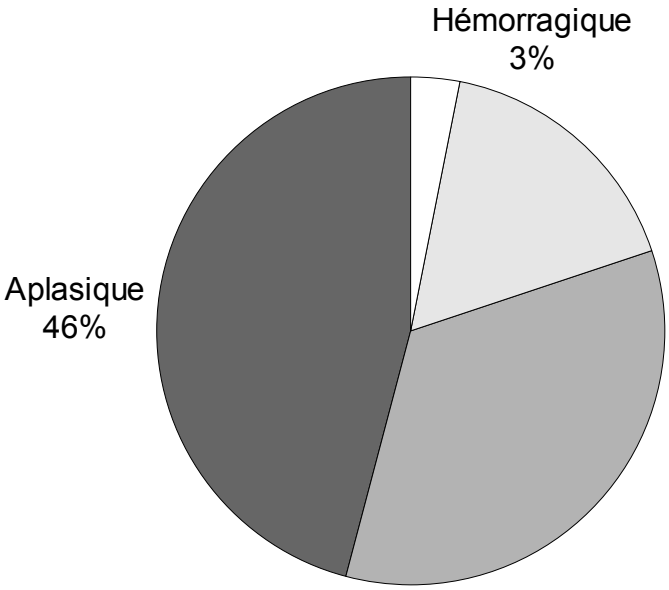
Certains chats présentent des «cornes cutanées», hyperplasies bénignes des kératinocytes. Ces excroissances coniques ou cylindriques, qui peuvent atteindre 3 à 5 centimètres de longueur, siègent principalement sur les coussinets plantaires, plus rarement sur la face; elles sont bien ancrées dans la peau sous-jacente, et, si elles sont retirées, elles ont tendance à réapparaître. Le rôle du FeLV dans l'apparition de ces tumeurs n'est pas totalement élucidé [91].

2. Affections hématologiques non tumorales

a. Anémies

Vingt-cinq [13] à 45% [35] des chats FeLV-positifs sont anémiés, et sont principalement des chats jeunes. L'origine de ces anémie est indiquée sur la figure 5.

Figure 5: Origine des anémies liées à l'infection par le FeLV (d'après [35])



► *Anémie hémolytique.*

7 à 10% des anémies sont des anémies hémolytiques, se traduisant par un ictère. L'anémie hémolytique associée au FeLV peut être d'origine auto-immune, confirmée par un test de Coombs positif [111] ou due à une infection concomitante par l'hémobartonellose (l'immunodépression par le FeLV permettant une infection du chat par *Mycoplasma haemofelis*).

► *Anémie par hypoplasie ou aplasie*

Le FeLV, tout particulièrement le FeLV-C, peut induire une hypoplasie voir une aplasie érythroïde. L'anémie est d'apparition progressive, normocytaire et normochrome, avec un hématocrite très bas (10%), et non régénérative. Les autres populations sanguines ne sont pas affectées.

L'apparition de lésions d'ostéomyélosclérose (densification de la trame osseuse et sclérose diffuse de la moelle) conduit également à une anémie aplasique.

► *Anémie par hémorragies* [35]

3% des anémies sont secondaires à des hémorragies par thrombocytopénie, la production de plaquettes par la moelle étant altérée par le FeLV.

b. Aplasie médullaire

La destruction des cellules souches de la moelle par le FeLV conduit à une pancytopénie globale ou d'anémies (cf ci-dessus), de thrombocytopénies, de lymphopénies, de neutropénies.

c. Immunodéficience

Du fait de l'importance de ce symptôme, il sera étudié ci dessous.

3. Affections non tumorales du système immunitaire

a. Affections à médiation immune

Le chat peut également présenter des maladies à médiation immune: anémies hémolytiques, thrombocytopénies, glomérulopathies, uvéites, polyarthrite progressive féline, neuropathies, myélopathies.

Les glomérulonéphrites sont quasiment systématiquement retrouvées chez les chats présentant une infection persistante par le FeLV, mais ont de faibles répercussions cliniques en général. Cependant, une insuffisance rénale peut survenir, et entraîner la mort [35].

La polyarthrite progressive est uniquement mise en évidence chez le chat mâle: un facteur génétique semble en cause [35].

b. Immunodéficience [34]

L'immunodéficience est la cause principale de mortalité chez les chats infectés par le FeLV: pour 1 décès par néoplasie, on en compte 4 par infections secondaires à l'immunodéficience, et l'immunodépression précède l'apparition des tumeurs de plusieurs mois. Le terme anglais de FAIDS, pour Feline Acquired Immunodeficiency Syndrom, est utilisé, par analogie avec le sigle AIDS utilisé chez l'homme.

L'immunodéficience liée à l'infection par le FeLV peut s'expliquer par plusieurs mécanismes, mais reste à déterminer pourquoi, après infection par un même virus, les déficits immunitaires présentent des degrés très variables.

Les chatons présentent une atrophie du thymus, et une hypoplasie de la zone paracorticale des noeuds lymphatiques fait suite à l'infection chez les adultes. Une neutropénie et une lymphopénie sont souvent retrouvées, et les neutrophiles des chats infectés présentent une baisse de leur fonction phagocytaire. Ces anomalies persistent même chez les chats qui ne sont plus virémiques.

Dans certains cas, la lymphopénie se traduit par une chute des lymphocytes CD4+ (T-helper), avec inversion du rapport CD4+/CD8+, mais plus couramment, la population de lymphocytes CD8+ est effondrée. L'interleukine 2, mais également l'interleukine 4 sont diminuées chez certains chats. Une augmentation du TNFα est également parfois mise en évidence. La réponse anticorps primaire et secondaire est altérée. La formation d'immuns complexes p27/anti-p27 est à l'origine d'un état d'hypocomplémentémie.

Pendant un certain temps, malgré ces anomalies, les chats apparaissent sains à l'examen clinique.

c. Affections secondaires à l'immunodéficience [63]

L'immunodépression rend le chat plus réceptif à de nombreuses maladies, listées dans le tableau 7:

Tableau 7: Maladies liées à l'immunodéficience due au FeLV et agents responsables (d'après [63])

Symptômes	Agents
Stomatites	Calicivirus, multiplications bactériennes, candidoses
Diarrhées	*Cryptosporidium* spp, *Isospora* spp, *Giardia* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*; helminthoses
Affections respiratoires supérieures	Herpesvirus de type 1, multiplications bactériennes, *Cryptococcus neoformans*
Pyothorax	Bactéries
Pneumonies	Bactéries, *Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus neoformans*
Affections dermatologiques/otites externes	Bactéries, *Mycobacterium* atypique, *Otodectes cynotis*, *Demodex cati*, *Notoedres cati*, dermatophytes, *Cryptococcus neoformans*, coxpox.
Affections hématologiques	*Hemobartonella felis**
Affections hépatiques	*Toxoplasma gondii*, virus de la PIF, bactéries
Affections neurologiques	*Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus neoformans*, virus de la PIF, FIV
Infections du tractus urinaire	Bactéries
Glomérulonéphrites	Bactéries, virus de la PIF
Insuffisance rénale	Bactéries, virus de la PIF
Affections oculaires	*Toxoplasma gondii*, virus de la PIF, champignons, notamment *Cryptococcus neoformans*

* actuellement *Mycoplasma haemophelis*

4. Autres symptômes

a. Adénomégalie

Une adénomégalie transitoire est présente suite à la pénétration du virus, mais peu souvent mise en évidence.

Une adénomégalie peut également être présente lors de lymphosarcome.

b. Troubles de la reproduction

Le virus peut être responsable de troubles de la fertilité.

Environ 80% des chattes virémiques vont connaître des troubles de la reproduction, et les deux-tiers des chattes présentant des troubles de la reproduction sont infectées par le FeLV [35, 111].

Les troubles de la reproduction comprennent des résorptions foetales, avortements, morts-nés, mortalité néonatale, secondaires à la contamination transplacentaire des embryons et des foetus. La chatte peut présenter également souvent une endométrite; il n'est pas établi qui de l'infection virale des embryons ou de l'endométrite est responsable des avortements. Généralement, une chatte ayant déjà présenté des troubles de la reproduction va mener une gestation en apparence normale jusqu'à 5 à 7 semaines, stade auquel le volume abdominal va brusquement diminuer, accompagné éventuellement d'écoulement sanglants à la vulve, signes d'un avortement [103].

Les chattes infectées latentes peuvent également transmettre le virus à leurs chatons [35]. Les chatons non décédés *in utero* naissent virémiques et décèdent en général rapidement. Certains survivent cependant, mais restent porteurs du virus.

c. Syndrome de dépérissement du chaton [34, 35]

De nombreux chatons infectés précocement vont présenter un « syndrome de dépérissement » (« fading kitten syndrom »), avec une diminution du réflexe de succion et de l'allaitement, une déshydratation et une hypothermie. Une atrophie du thymus est également retrouvée. Ces chatons décèdent dans les 8 à 12 semaines.

d. Cachexie [35]

Une cachexie est souvent présente lors d'infection par le FeLV; elle peut être causée secondairement par l'anorexie, les vomissements, la diarrhée chronique, mais il existe également une cachexie associée au FeLV, dont le mécanisme n'est pas connu. Une substance produite par les monocytes infectés par le FeLV, appelée « facteur de nécrose tumorale », est peut être à l'origine de la cachexie.

e. Syndrome « panleucopénie-like » et entérites

Le syndrome « panleucopénie-like » (ou panleucopenie-like syndrom, PLS), appelé également myéloblastopénie FeLV, est souvent décrite comme une affection liée au FeLV. Les chats atteints présentent une diarrhée hémorragique, des vomissements, une leucopénie et meurent en général dans les 7 jours. Cliniquement et pathologiquement, cette affection ne se différencie pas de la panleucopénie. Cependant, des études récentes montrent que le parvovirus responsable de la panleucopénie peut être retrouvé dans les entérocytes des chats atteint de PLS: il pourrait être favorisé par une infection opportuniste par le parvovirus [35].

L'entérite associée au FeLV (FeLV associated enteritis, ou FAE) se caractérise histologiquement par des modifications modérées à sévères de l'intestin grêle: on note une dégénérescence des cellules épithéliales des cryptes, une déplétion des cryptes, une dilatation des cryptes restantes, et une atrophie des villosités.

La FAE est une entité unique, différente du syndrome panleucopénie-like, des entérites dues aux parvovirus ou aux coronavirus. D'importantes quantités de gp70 et de p15E sont retrouvées dans les cellules infectées, et les altérations cellulaires sont liées à ces excès. L'accumulation des précurseurs de ces protéines dans le réticulum endoplasmique granuleux et dans l'appareil de Golgi inhibe ou altère la synthèse des glycoprotéines cellulaires. Ces phénomènes sont considérés comme des médiateurs potentiels ou les causes directes des altérations des cryptes intestinales [61].

f. Neuropathies

Les symptômes neurologiques sont très variés et peu spécifiques: les ataxies et parésies postérieures observées initialement évoluent vers des paralysies ou une hyperesthésie. Certains chats présentaient une léthargie, une fatigabilité, des modifications du comportement, de la désorientation; une mydriase ou une anisocorie, avec une diminution des réflexes photomoteurs, est également parfois notée, ainsi qu'une incontinence urinaire, ou une disparition de la sensibilité douloureuse [14].

Les analyses effectuées sur ces animaux mettent en évidence des anomalies du système nerveux, touchant particulièrement la moelle épinière. On note une dégénérescence de la substance blanche de la moelle épinière et du tronc cérébral, avec une dilatation de la gaine de myéline. Le nombre de neurones dans la corne ventrale de la moelle chez les animaux infectés semble être légèrement inférieur à celui d'animaux sains [14].

L'antigène p27 du FeLV a été mis en évidence dans les neurones, les cellules endothéliales et les cellules gliales de ces animaux, et de l'ADN proviral dans la moelle épinière, de même que dans d'autres localisations courantes [14].

Un des mécanismes du pouvoir cytopathogène du FeLV sur le système nerveux est une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium dans les

cônes de croissance des neurones. Ceci aboutit à une altération morphologique puis une mort cellulaire. Ce mécanisme est dû à un oligopeptide d'une des glycoprotéines de l'enveloppe, la région 5 de la glycoprotéine 70.

Les anisocories sont dues à l'atteinte du nerf ciliaire court, qui innerve les muscles de l'iris [35].

L'incontinence urinaire est secondaire à l'atteinte de l'innervation de la vessie [35].

g. Affections oculaires non tumorales

Le FeLV peut être à l'origine d'uvéites, de glaucome, de conjonctivites ou d'affections de la rétine, même en l'absence de lymphosarcome oculaire.

Les uvéites se traduisent par une iridocyclite, avec éventuellement un hypopion, une choriorétinite et un décollement de rétine.

Un glaucome peut apparaître secondairement à l'accumulation de cellules inflammatoires (ou tumorales) dans l'angle irido-cornéen [64].

Les chats infectés par le FeLV présentent également plus de conjonctivites que les chats non infectés.

Les affections de la rétine sont courantes chez les chats infectés, notamment hémorragies rétiniennes, dégénérescence de la rétine, décollement rétinien, hémorragies du vitré, hyphéma. Un fait marquant est que tous les chats infectés par le FeLV et présentant une rétinopathie sont anémiés; le phénomène de rétinopathie chez les individus anémiés est bien connu, et les rétinopathies chez les chats infectés par le FeLV seraient dues à l'anémie [110].

h. Troubles cutanés

Outre les lymphomes cutanés étudiés ci-dessus, quelques cas de dermatoses à cellules géantes ont été rapportés dans la littérature. Les chats présentent en général des lésions alopéciques, squameuses, croûteuses, vésiculeuses, ulcérées, prurigineuses, touchant principalement la face (menton, lèvres, nez, paupières, région pré-auriculaire), les oreilles et le cou, et pouvant s'étendre aux coussinets et aux muqueuses.

Les chats présentent une altération de l'état général quelques semaines après l'apparition des lésions dermatologiques: anorexie, léthargie, amaigrissement [91].

Une publication rapporte le cas d'un chat à lésions ulcérées, bien délimitées, touchant les pattes, la tête, les membres, avec une altération de l'état général, une hyperthermie, une anémie non régénérative. Le rôle du FeLV dans les lésions cutanées et les affections générales a été mis en évidence par la recherche d'antigènes dans le sang et les biopsies de peau, et de génome viral dans les biopsies, toutes positives [23].

E. Prophylaxie

1. Vaccination

a. Importance et principe

Du fait du fort pouvoir pathogène du virus, de l'absence de traitement réellement efficace, et du risque élevé d'exposition au virus des chats vivant en communauté ou ayant accès à l'extérieur, la vaccination est importante à mettre en oeuvre [30].

Le vaccin doit à la fois protéger contre la virémie suite à un contact avec le virus, mais également contre les maladies liées au FeLV, sans effets secondaires; en théorie, il est donc nécessaire que le vaccin contienne la gp70 et l'antigène FOCMA, et peu ou pas de gp15e.

Si la réponse par anticorps séroneutralisants est suffisante suite au vaccin, la virémie est enrayée, et il n'est pas nécessaire d'utiliser d'antigène FOCMA.

Le FeLV-A étant présent dans tous les cas de FeLV, et nécessaire à l'infection par les sous-types B et C, la vaccination contre les sous-types B et C n'est pas indispensable.

Du fait de la capacité du virus à intégrer le génome de l'hôte, l'utilisation de virus vivant atténué dans les vaccins est évitée.

L'identification des chats déjà infectés avant la vaccination permet d'éviter une vaccination inutile, celle-ci n'ayant aucun intérêt chez ces chats. Cependant, la vaccination d'un chat déjà infecté ne va pas accélérer l'évolution de la maladie, ni réactiver le virus chez les chats infectés latents [78].

b. Vaccins disponibles

En France, quatre vaccins contre la leucose féline sont disponibles; leurs caractéristiques principales sont mentionnées dans le tableau 8 (d'après [26]).

► *Vaccin classique à virus entier inactivé: Fevaxyn® FeLV*

L'inactivation du virus lui retire toute virulence. Les antigènes immunogènes sont conservés cependant, et seront à l'origine de la protection. Cependant, faute de multiplication du pathogène assurant une réponse vaccinale suffisante, l'immunogénicité de ce type de vaccin doit être augmentée. Les masses antigéniques administrées doivent être importantes, et l'addition d'un adjuvant nécessaire bien souvent. Dans le cas du Fevaxyn® FeLV, l'adjuvant utilisé est le Carbopol® (adjuvant aqueux breveté).

► *Vaccins à sous-unités virales: Leucogen® et Leukocell® 2*

Le vaccin Leucogen® a été mis au point par génie génétique, et est basé sur 2 principes: les sous-types B et C ne sont retrouvés qu'associés au sous-type A, la vaccination contre le sous-type A est donc suffisante; la glycoprotéine gp15e ayant un rôle immunosuppresseur, il est nécessaire d'isoler la gp70 de la gp15e. Un vaccin ne contenant que la partie immunisante du sous-type A a donc été mis au point. La souche FeLV-A est tout d'abord isolée; le provirus est séquencé, et la séquence codant pour la gp70 est extraite et incorporée dans un vecteur plasmidique puis dans un *E. coli* recombinant. Suite à la multiplication, il y a production de la partie protéique (p45) de la gp70. Après purification, il y a adsorption sur une préparation adjuvante. Ce vaccin est très efficace, et présente une bonne innocuité (absence de structure virale et de gp15e).

Le vaccin Leukocell® 2 disponible actuellement a été précédé par le premier vaccin contre la leucose mis sur le marché, le vaccin Leukocell®. Ce vaccin contenait notamment la gp70, produite en grande quantité par une lignée lymphoïde (FL74) infectée par les 3 sous types viraux (FeLV-A, B et C). Tous les antigènes (gp70 de types A, B et C, p15e, p10, p12, p15c, p27, FOCMA) sont présents dans ce vaccin. La quantité de gp27 était suffisamment faible pour ne pas entraîner de positivité des tests de détections basés sur la mise en évidence de cet antigène. Le protocole vaccinal prévoyait 3 injections en primovaccination. Le vaccin Leukocell® 2 stimule lui uniquement la production d'anticorps contre les gp70 de types A, B et C et contre l'antigène FOCMA, ainsi que la production d'anticorps cytotoxiques dépendant du complément. Le protocole vaccinal est réduit à 2 injections.

► *Vaccin recombinant à vecteur vivant: Purevax® FeLV [90]*

Enfin, le vaccin Purevax® FeLV est un vaccin de nouvelle génération, utilisant un vecteur vivant non réplicatif, le canarypox-virus. Le principe de ce vaccin est d'insérer dans un vecteur vivant, qui stimule une réaction immunitaire, les antigènes du FeLV impliqué dans la protection, tout en éliminant ceux inutiles ou nocifs.

Le canarypoxvirus représente un vecteur de choix chez les mammifères:

- il ne se réplique pas dans les cellules de mammifères, son cycle s'arrête juste avant la réplication de l'ADN viral
- son cycle de réplication se fait dans le cytoplasme, il n'y a donc pas de contact avec le génome cellulaire.
- Il n'est pas pathogène pour les mammifères

Le canarypoxvirus-FeLV va exprimer les immunogènes protecteurs majeurs du FeLV: gp70 codée par le gène env du FeLV-A, et protéines de capsides codées par le gène gag. L'expression de ces immunogènes va entraîner une réponse immunitaire complète. Du fait de l'efficacité de la réponse, et comme pour les vaccins vivants atténués classiques, il n'est pas nécessaire d'ajouter un adjuvant au vaccin.

Tableau 8: Principales caractéristiques des vaccins contre le FeLV disponibles en France (d'après [26])

Vaccin	Laboratoire	Type de vaccin	Propriétés	Adjuvant	Présence des sérotypes FeLV et de l'Ag FOCMA
Fevaxyn® FeLV	Fort Dodge	Inactivé	Virus entier inactivé (souche 61E)	Carbopol	A, B
Leucogen®	Virbac	Inactivé (sous-unitaire)	100ug de protéine P45 (partie de la GP70 virale) recombinante, purifiée	Hydroxyde d'alumine et quil A	A
Leukocell® 2	Pfizer	Inactivé (sous-unitaire)	Suspension d'Ag de gp70 issue d'un filtrat inactivé de cellules FL-74 (cellules de lymphome félin) infectées par les sous groupes -A, -B et -C de la souche Kawakami-Theilen de FeLV	Hydroxyde d'alumine et quil A	A, B, C et FOCMA
Purevax® FeLV	Merial	Recombinant, vecteur vivant	Virus Canarypox recombiné exprimant les gènes env et gag du FeLV-A	Non	A

c. Protocoles

Le protocole de vaccination conseillé chez les chatons est d'une injection vers 8-9 semaines, suivie d'un rappel 3 à 4 semaines plus tard, et souvent d'un rappel vers l'âge de 4 mois, puis d'un rappel 12 mois plus tard.

Chez l'adulte, la primovaccination se fait par 2 injections à 4 semaines d'intervalle.

La durée de protection vaccinale maximale n'est pas connue, et les laboratoires conseillent un rappel annuel. Cependant, l'immunité obtenue lors d'infection naturelle étant d'au moins 3 ans, il serait possible de n'effectuer les rappels que tous les 2 à 3 ans [53].

d. Réactions indésirables [99]

Environ 1% des chats vaccinés vont présenter des réactions suite au vaccin: gonflement ou douleur au point d'injection, abattement transitoire, hyperthermie éventuelle.

La question du lien entre fibrosarcome félin et vaccination contre le FeLV se pose. Ces tumeurs se développent particulièrement, mais non exclusivement, sur les zones où sont classiquement réalisées les injections (région interscapulaire notamment). Les vaccins adjuvés, dont le vaccin contre le FeLV, ont été mis en cause. L'incidence de ces tumeurs est d'une sur 10000 vaccins leucose/rage. Actuellement, un phénomène d'inflammation chronique, non spécifique à la vaccination, associé à un état d'immunodépression localisé est privilégié.

Des sarcomes indifférenciés, rhabdosarcomes, chondrosarcomes, ostéosarcomes, hystiocytome fibreux malins peuvent également apparaître, 4 mois à 2 ans après l'injection, sans que ces réactions soient spécifiques au vaccin contre la leucose féline [97].

e. Limites

La vaccination n'apporte qu'une protection partielle: lors de contrôle d'efficacité du vaccin Eurifel® FeLV avec épreuve virulente naturelle, 4 chats sur 24 présentent une virémie persistante malgré la vaccination (et 83% sont résistants donc), tandis que parmi le groupe placebo, n'ayant pas été vacciné, 18/23 sont virémiques persistants (soit 12% de résistants) [53].

D'autre part, il a été montré grâce à la PCR temps-réel que du provirus pouvait être mis en évidence chez les chats vaccinés et que la vaccination ne protège pas les chats d'une réplication virale minimale suite à une infection [16, 46, 47].

Malgré ces limites, les vaccins protègent efficacement les chats d'affections liées au FeLV. La recherche de vaccins contre le FeLV qui évitent également de l'intégration du provirus, doit parallèlement être poursuivie.

2. Prophylaxie passive

La prophylaxie passive consiste à éviter toute contamination, en supprimant les contacts avec le virus.

a. Principes généraux [34, 66]

Les chats infectés doivent être confinés, toute sortie et contact avec des chats risquant de disséminer le virus, et d'exposer les chats infectés, éventuellement immunodéprimés, à des agents infectieux. Pour la même raison, il est préférable de distribuer une nourriture industrielle aux chats infectés, et d'éviter la viande crue, les oeufs, et le lait cru.

Une visite de contrôle semestrielle chez le vétérinaire est conseillée, avec un examen particulièrement attentif de la cavité buccale, des noeuds lymphatiques superficiels, des segments antérieurs et postérieurs de l'oeil, de la peau (détection de parasites), et un contrôle du poids (la perte de poids étant souvent le 1er signe de dégradation de l'état général). Une numération formule sanguine est à réaliser tous les 6 mois, et un bilan biochimique ainsi qu'une analyse d'urines tous les ans. Pour les chats potentiellement exposés à des parasitoses intestinales ou à antécédents de diarrhée, une coproculture doit être réalisée.

Enfin, la stérilisation des chats infectés est conseillée, afin de supprimer le stress lié aux chaleurs, recherche de partenaire sexuel, gestation et allaitement, et de réduire la tendance du chat à sortir.

b. Prophylaxie en élevage félin

La première étape passe par la détection des chats infectés, et leur isolement des chats FeLV négatifs. Tout le matériel d'élevage et les locaux sont désinfectés, et des précautions sont prises par l'éleveur lorsqu'il passe de l'effectif sain aux malades (désinfection des mains, port de blouse jetable...).

Trois mois plus tard, l'ensemble de l'effectif est à nouveau testé:

- les chats toujours positifs sont considérés comme infectés persistants, et ne doivent plus jamais réintégrer l'élevage.
- les chats toujours négatifs sont considérés comme sains.
- les chats s'étant positivés doivent subir un isolement et un nouveau test 3 mois plus tard [103].

L'ensemble de l'effectif doit être testé tous les 6-12 mois. Une attention particulière doit être apportée lors des saillies (statut du mâle ou de la femelle, hygiène de l'élevage qui accueille la femelle pour saillie...), et lors d'introduction de nouveaux reproducteurs: un isolement de 3 mois, avec tests au début et à la fin de l'isolement est impératif [103].

De même, en expositions félines, des risques de transmission du virus existent par contacts entre chats (distances entre les cages, utilisation d'un même jouet souillé par de la salive) ou par les manipulations multiples (visiteurs qui

passent de chat à chat, assesseurs...). Des règles d'hygiène doivent être respectées pour éviter les contaminations.

c. Prophylaxie en milieu hospitalier [34, 66]

Du fait de la très grande sensibilité du FeLV aux désinfectants courants, y compris le savon, et de sa faible résistance à température ambiante, les risques de transmission du FeLV d'un chat excréteur à un chat sain sont extrêmement faibles en consultation ou en hospitalisation, à partir du moment où les règles d'hygiène de base sont respectées: les chats infectés sont hospitalisés dans des cages individuelles, à l'écart des chats sains, le matériel médical souillé par du sang ou de la salive, les gamelles, les applicateurs multidoses...) ne doit pas passer de chats à chats, et le personnel de soins doit se laver les mains après contacts avec les chats infectés et après le nettoyage des cages les hébergeant.

D'autre part, les chats infectés par le FeLV ne doivent jamais être placés dans la zone d'hospitalisation réservée aux « animaux contagieux », afin de ne pas les exposer à de multiples pathogènes auxquels ils sont très sensibles, du fait de leur possible immunodépression.

Enfin, les chats donneurs de sang ou de tissus pour greffes doivent être testés.

F. Traitements

1. Traitement des affections liées au FeLV

a. Principes généraux [34]

L'utilisation des glucocorticoïdes et d'autres molécules immunosuppressives doit être évitée au maximum chez les chats infectés par le FeLV; leur usage est réservé à certaines indications très précises .

Il en est de même chez les chats vivant au contact de chats infectés: le traitement par molécules immunosuppressives peut réactiver une infection latente chez ces chats.

Les molécules myélosuppressives, risquant d'aggraver les syndromes myélosuppresseurs, doivent également être évitées.

b. Traitement des infections secondaires à l'immunodéficience

Les molécules utilisées dans le traitement de ces infections sont les mêmes que celles employées chez les chats sains. Cependant, les posologies et les durées

de traitements sont souvent à revoir à la hausse, et la réponse au traitement peut prendre plus longtemps que prévu [34].

c. Traitement des affections médullaires et/ou à médiation immune

► *Anémie*

En cas d'anémie, il convient tout d'abord de combattre l'hypoxie [18].

Les transfusions sanguines représentent une grande partie du traitement, tout particulièrement chez les chats à anémie non-régénérative. Cependant, leur disponibilité n'est pas toujours optimale, en l'absence de banque de sang félin, et des précautions transfusionnelles à prendre (compatibilité sanguine, absence d'agent infectieux....).

L'hémoglobine bovine (Oxyglobin®) dispose d'une Autorisation de Mise sur le Marché validée chez le chien: l'utilisation chez le chat dans cette indication est également possible.

La stimulation de l'érythropoïèse intervient dans un second temps: il est possible d'utiliser des androgènes stimulant la synthèse d'érythropoïétine (EPO), qui stimule à son tour les précurseurs érythroïdes, et permet un meilleur relarguage tissulaire d'oxygène, ou d'utiliser directement l'EPO.

Les androgènes synthétiques disponibles sont:

- la nandrolone (Laurabolin®): 1 à 5mg/kg/semaine, par voie intramusculaire, pendant 6 semaines
- le stanozolol: 0,25 à 3mg/kg/jour *per os* ou 2 à 10 mg/kg/semaine par voie intramusculaire, pendant 6 semaines au minimum, et jusqu'à 3 mois.
- le danazol: 5mg/kg, 2 fois par jour, *per os*, pendant 6 semaines à 3 mois.

Il y a peu d'effets secondaires à ces traitements: on note parfois une masculinisation et une hépatomégalie.

L'utilisation d'érythropoïétine est intéressante: non seulement l'EPO augmente le taux d'hématies, mais également le taux de plaquettes et de mégacaryocytes. Une étude rapporte également une augmentation du taux de leucocytes suite à l'utilisation d'EPO [34].

L'EPO recombinante humaine peut être utilisée; les posologies recommandées varient selon les auteurs:

- 35 à 100 UI/kg par voie sous cutanée 1 fois par jour jusqu'à corriger l'anémie, puis 1 fois par semaine pour entretenir la population érythrocytaire [65]
- 150 UI/kg/jour par voie sous-cutanée pendant 7 jours puis 50 à 150 UI/kg par voie sous cutanée 3 fois par semaine pendant 3 semaines [18].
- 100 UI/kg par voie sous cutanée, toutes les 48 heures jusqu'à ce que l'hématocrite voulu soit atteint (en général, 30%), puis les injections sont répétées à la demande. La réponse intervient dans les 3 à 4 semaines [34].

En l'absence de réponse au traitement, une supplémentation en fer peut être ajoutée, sauf si le chat a subi une transfusion sanguine auparavant (apport en fer

déjà élevé, un apport supplémentaire risque d'entraîner une hémosidérose). Des anticorps anti-EPO peuvent se développer au bout de quelques mois de traitement, rendant celui-ci inefficace. Après disparition de ces anticorps, l'apport d'EPO peut reprendre [34].

Certains chats ne réagissent pas du tout à l'EPO; chez ceux-ci, les transfusions sanguines peuvent être le seul traitement possible [34].

Dans le cas d'anémies hémolytiques à médiation immune, la prednisolone peut être utilisée, mais une recherche d'hémobartonellose doit être faite [34].

► *Neutropénie à médiation immune*

Dans de nombreux cas, l'utilisation de glucocorticoïdes à doses immunosuppressives permet de rétablir un taux de neutrophiles normal.

► *Hypoplasie médullaire*

Chez les chats présentant une hypoplasie médullaire, les glucocorticoïdes ne doivent pas être utilisés. Un facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF), le Filgrastim, peut être utilisé, et a donné des résultats: Il est administré au chat à la posologie de 5µg/kg par voie sous-cutanée par jour pendant au maximum 21 jours. Une neutropénie rebond peut apparaître suite au développent d'anticorps neutralisants ou même d'anticorps dirigés contre le G-CSF félin [34]. Les résultats suite à l'utilisation de cette molécule sont cependant controversés, l'accès à la molécule est limité (usage hospitalier) et son coût représente souvent un frein à son utilisation [18].

d. Traitement des lymphomes et des leucémies [34]

Le traitement des lymphomes chez les chats infectés par le FeLV se fait selon les protocoles classiques de traitement. La localisation du lymphosarcome et l'importance de l'extension tumorale influent sur le pronostic.

Le protocole COP, associant cyclophosphamide, vincristine et prednisolone est le plus couramment utilisé. On peut espérer un taux de rémission de 75%, avec une médiane de durée de rémission de 150 jours, et un taux de rémission de 20% à 1 an. Pour maintenir la rémission, l'adjonction de doxorubicine (protocole COPA) au protocole COP semble intéressante, avec une médiane de rémission de 243 jours.

Chez ces chats leucémiques, la moelle est envahie par des cellules cancéreuses, et doit en être débarrassée pour que des précurseurs hématopoïétiques normaux recolonisent la moelle. Ce processus peut prendre 3 à 4 semaines, et l'anémie et la neutropénie ne sont de ce fait pas immédiatement réversibles.

Les chats à leucémie lymphoïde aiguë traités par vincristine et prednisolone ont un taux de rémission de 25%; par contre, en cas de leucémie myéloïde aiguë (traitée par doxorubicine ou cytosine arabinoside), le taux de rémission est proche de 0, probablement du fait que quasiment toute la moelle est envahie de cellules tumorales, et que la destruction de presque tout la moelle est donc nécessaire pour

la débarrasser des cellules tumorales.

Le fait que les lymphomes soient dûs au FeLV ne semble pas influencer la réponse au traitement [18].

2. Traitements antiviraux

De très nombreux essais ont été réalisés avec une multitude de molécules, sur des chats infectés expérimentalement ou naturellement. On peut cependant regretter la difficulté d'interprétation de ces études, par absence de chats témoins ou de placebos pour certaines.

a. Chimiothérapie antivirale [34]

L'AZT (ou zidovudine) est la molécule qui donne les résultats les plus intéressants. L'AZT est actif non seulement *in vitro* contre le FeLV, mais également *in vivo*, lorsque le traitement intervient dans les 3 semaines suivant l'infection expérimentale par le FeLV. L'infection de la moelle osseuse et la virémie persistante sont évitées chez les chats traités 1 semaine après l'infection expérimentale. Cependant, l'AZT semble moins actif sur le FeLV que sur le FIV.

Les posologies recommandées varient de 5mg/kg par voie sous-cutanée ou *per os* 2 fois par jour à 20mg/kg 3 fois par jour pendant 1 semaine puis 10mg/kg 3 fois par jour *per os*. Des numération-formules sanguines sont à réaliser pour contrôler l'apparition d'une éventuelle anémie arégénérative, effet secondaire courant du traitement. L'hématocrite diminue souvent au cours des premières semaines de traitement, et doit être interrompu si l'hématocrite est inférieur à 20%.

Concernant l'inflammation de la cavité orale, le PMEA (9-(2-phosphonylmethoxyethyl) adenine) donne de meilleurs résultats que l'AZT. L'inconvénient majeur du PMEA est qu'il est à l'origine de baisses très sévères de l'hématocrite et des taux d'hémoglobine, baisses plus importantes et plus fréquentes qu'avec l'AZT, conduisant à l'interruption du traitement [36]. L'intérêt du PMEA est diminué par ces effets secondaires.

La zalcitabine (ddC) inhibe la réplication du FeLV et diffère l'apparition de la virémie. Cependant, après l'arrêt d'un traitement de 3 semaines, on retrouve une incidence égale et un niveau de virémie similaire.

L'AZT, le PMEA et la ddC agissent par inhibition de la reverse-transcriptase.

La ribavirine, molécule antivirale à large spectre qui inhiberait la synthèse des acides nucléiques viraux, est également active contre le FeLV *in vitro*, mais son utilisation sur le chat est délicate, celui-ci étant très sensible aux effets secondaires de la molécule. La difficulté est la même avec le foscarnet. Quelques chats ont été traités par la suramine.

b. Immunothérapie

L'interferon α a une activité immunomodulatrice et antivirale. Le traitement

avec de hautes doses d'IFNα (10^4 à 10^6UI/kg par voie sous-cutanée toutes les 12 heures) entraîne une diminution significative du taux d'antigène p27 circulant. Cependant, le développement d'anticorps anti-IFNα limite l'efficacité du traitement. Une autre étude, chez des chats infectés naturellement, ne montre pas de différence entre chats traités et chats non traités [34].

Des chats traités avec des doses moindres (0,5 ou 5 UI/kg PO 1 fois par jour pendant 1 semaine, pendant 1 mois avec semaines alternées), ont présenté une amélioration significative de leur état général et ont eu une durée de vie plus longue que des chats recevant un placebo [109].

De bonnes réponses cliniques sont observées également lors de traitement d'anémies non régénératives: amélioration de l'état général, normalisation de l'hématocrite [109].

Le protocole proposé, en utilisant de l'interferon α recombinant humain est le suivant: 30UI/chat, 1 fois par jour pendant 1 semaine, puis traitement à semaines alternées jusqu'à ce que le chat soit cliniquement normal. Lors de réapparition de signes cliniques, le traitement doit être repris [109].

L'interferon ω inhibe la réplication virale *in vitro*. *In vivo*, un traitement par l'IFN ω de chats FeLV positifs, en phase symptomatique, à la posologie de 106 UI/kg SC 1 fois par jour pendant 5 jours permet d'obtenir un taux de survie plus élevé que chez les chats non traités (le taux de mortalité des chats infectés par le FeLV et anémiés a diminué d'environ 30 %, et de 20% chez les chats non-anémiés) ainsi qu'une nette amélioration de leur état général. La réponse au traitement (examen clinique, numération formule sanguine) est évaluée 14 jours après la première injection, et permet de préciser le pronostic [18].

Les résultats suite à l'utilisation de Staphylococcus Protein A (SPA) varient beaucoup selon les études. Une étude propose une administration intrapéritonéale biquotidienne de 10µg/kg, puis mensuelle lors de disparition des symptômes [22].

L'acemannan, antiviral et immunomodulateur issu d'une plante, *Aloa Barbadensis*, n'a pas montré de résultats significatifs.

G. L'infection par le FeLV, vice rédhibitoire: aspects légaux [107]

1. Généralités

La loi 89-412 du 22 juin 1989 et son décret d'application définissent une liste de vices rédhibitoires chez le chien et le chat, dans les dispositions relatives aux ventes de chiens et de chats (Code Rural, articles L213-1 et suivants). La loi du 6 janvier 1999, ou loi Nallet, modifie certains articles, dans le but de simplifier les démarches judiciaires dans les cas des maladies les plus courantes.

La liste des vices rédhibitoires, incluant l'infection par le virus leucémogène félin, est disponible dans les articles L213-2 et suivants du code rural.

2. Définition du vice rédhibitoire

Un vice rédhibitoire est un défaut légalement réputé grave, caché et antérieur à la vente sous certaines conditions.

Le fait d'inclure l'infection par le FeLV dans les vices rédhibitoires permet, une fois le diagnostic de l'infection posé dans les délais imposés et en précisant qu'elle était inapparente (vice « caché »), d'admettre son antériorité à la vente et sa gravité.

3. Délais

L'article L213-5 stipule: « Les délais impartis aux acheteurs de chiens et de chats pour provoquer la nomination d'experts chargés de dresser procès-verbal et pour intenter l'action résultant des vices rédhibitoires sont fixés par décret en Conseil d'État. »

Ces délais sont définis par le décret n°90-572 du 18 juin 1990:

a. Délai de rédhibition

Le délai de rédhibition, commun à tous les vices rédhibitoires, est de 30 jours à compter de la livraison de l'animal; si ce délai expire un samedi ou un dimanche, la limite sera le premier jour ouvrable suivant.

En d'autres termes, l'acquéreur de l'animal possiblement atteint de la leucose féline dispose de ce délai pour saisir le tribunal d'instance et demander la nomination d'experts chargés de dresser un procès verbal.

b. Délai de suspicion

D'après l'article L213-3 du Code Rural, « Pour certaines maladies transmissibles du chien et du chat, les dispositions de l'article 1647 du code civil ne s'appliquent que si un diagnostic de suspicion a été établi par un vétérinaire ou docteur vétérinaire dans les délais fixés par décret en Conseil d'État ».

Le décret du 28 juin 1990 fixe ce délai de suspicion à 15 jours pour l'infection par le FeLV; l'acheteur dispose donc de ce délai pour présenter l'animal à un vétérinaire et que soit établi un certificat de suspicion au vu de signes cliniques en faveur. Le diagnostic de certitude peut n'intervenir qu'après ce délai de 15 jours.

4. Critères de suspicion

L'article 1 de l'arrêté du 2 août 1990 définit des critères d'établissement du diagnostic de suspicion de l'infection par le FeLV, à rechercher tout particulièrement:

- pour les formes tumorales: des tumeurs médiastinales, mésentériques, digestives ou rénales
- pour les formes non tumorales: une hyperthermie persistante, une anémie, une

polyadénopathie ou un avortement.

- Présence d'antigène viral mis en évidence par le test ELISA dans le sang ou les autres liquides biologiques.

Le vétérinaire peut cependant appuyer son diagnostic de suspicion sur d'autres signes cliniques, ces recommandations n'ont rien d'obligatoire.

Le certificat de suspicion rédigé par le vétérinaire doit mentionner les symptômes présentés par l'animal, notamment ceux définis comme critères de suspicion, ainsi que le résultat du test FeLV en faveur de l'infection par le FeLV.

5. Discussion

L'infection par le FeLV est considérée par le législateur comme un vice rédhibitoire, c'est à dire un défaut grave, caché, antérieur à la vente.

a. Caractère caché

Pendant toute la phase d'incubation, l'infection est indétectable par le vendeur et l'acheteur; le terme de « caché » s'applique donc.

b. Gravité

Le législateur précise bien que la seule infection constitue le vice, pas les maladies FeLV-induites; les différentes issues de l'infection ne sont pas prises en compte. En effet, suite à l'infection, un grand nombre d'animaux éliminent le virus; l'infection n'est dans ce cas pas « un défaut grave ». Elle l'est par contre chez les chats virémiques persistants, voir infectés latents. Cette nuance n'est pas prise en compte par la législation.

c. Antériorité à la vente et délais

Concernant l'antériorité à la vente de l'infection, 2 cas se présentent: les chats présentant des symptômes, et les chats asymptomatiques.

Un délai de 3 à 36 mois est nécessaire à l'apparition d'une maladie chez les virémiques persistants; dans ce cas, l'infection est nécessairement antérieure à la vente lorsque la suspicion est établie dans les délais. Par contre, un chat infecté peu de temps avant la vente dépassera ce délai de suspicion avant de présenter des symptômes.

Pour les chats asymptomatiques, l'arrêté du 2 août 1990 inclut la détection de l'antigène viral P27 dans le sang ou dans d'autres liquides biologiques comme critère de suspicion. L'antigène viral P27 n'étant présent que 3 à 4 semaines au minimum après l'infection: si l'antigène est détecté dans les délais, l'infection est forcément antérieure à la vente; s'il ne n'est pas, le chat a pu tout de même être contaminé très peu de temps avant la vente, lésant l'acheteur.

Le vétérinaire restant cependant libre de baser son diagnostic de suspicion

sur d'autres critères, il convient de souligner l'intérêt de la PCR qui permet de détecter une infection plus précocement après le contact infectieux. Cette technique, bien que non disponible lors de la rédaction des textes, est parfaitement recevable [11].

Cette première partie a permis de faire le point sur l'infection par le FeLV.

Les éléments de virologie exposés permettent de mieux comprendre sur quoi s'appuient les tests disponibles: détection du virus entier, d'antigènes, de génome viral.

L'épidémiologie, la pathogénie, les signes cliniques, la prophylaxie, les traitements ainsi que les aspects légaux de l'infection sont utilisables au quotidien par le praticien confronté à des chats infectés ou susceptibles de l'être.

La pathogénie a une importance particulière dans cette infection: il a été mis en évidence la progression de l'infection en 6 stades, et la très grande diversité des issues de l'infection, avec l'existence de chats régresseurs immuns, de chats régresseurs infectés latents avec possibilité de réactivation virale, de chats progresseurs, et de chats à infection atypique, localisée.

Ces différents stades et issues laissent soupçonner des difficultés de diagnostic. Le praticien est donc amené à s'interroger sur le choix du test adéquat parmi ceux disponibles, et sur l'interprétation du résultat obtenu. La seconde partie de cette thèse va s'attacher à répondre à ces questions.

SECONDE PARTIE: METHODES DE DIAGNOSTIC ET DE DEPISTAGE DE L'INFECTION PAR LE FeLV DISPONIBLES

L'infection par le FeLV est à l'origine de symptômes très variés, secondaires à l'immunodépression, ou directement liés à l'action du virus. Si certains peuvent orienter fortement vers la suspicion d'infection par le FeLV (par exemple les lymphosarcomes thymiques), aucun de ces symptôme n'est un diagnostic de certitude.

Il est indispensable de confirmer la suspicion d'infection par des tests mettant en évidence l'infection.

A. Présentation des différentes méthodes [81]

1. Mise en évidence du virus

a. Observation du virus

La morphologie du virus permet de l'identifier à l'observation au microscope électronique. Cette méthode est spécifique, mais peu sensible: un prélèvement de bonne qualité, contenant suffisamment de virus, est nécessaire afin de limiter les risques de faux négatifs. Étant donné les contraintes techniques (matériel, temps, personnel nécessaires), ce test n'est pas réalisé en routine, malgré son excellente spécificité.

b. Isolement du virus

L'isolement de virus infectieux est considéré par certains auteurs comme la méthode de référence pour diagnostiquer l'infection.

La première méthode utilise des fibroblastes félins contenant un provirus défectif sarcomatogène de souris. Mis à leur contact, le FeLV éventuellement présent dans les prélèvements se réplique et libère le provirus, entraînant la transformation et la prolifération des fibroblastes. La spécificité de ce test est très

bonne également.

L'isolement viral se fait à partir de sang ou de salive généralement [39, 40, 55]. La salive est d'ailleurs considérée comme la source principale pour la transmission du virus [39, 40].

Une seconde méthode utilise les cellules de moelle osseuse éventuellement infectées, dont on détourne la réponse immunitaire: ces cellules sont cultivées en présence de corticoïdes ou de macrophages de chatons. En cas d'infection par le FeLV, la réponse immunitaire n'est plus tournée vers ce virus, qui pourra se multiplier. L'intérêt principal de ce test est qu'il permet de mettre en évidence les infections latentes, par réactivation du virus présent dans la moelle. Cette méthode présente l'inconvénient de nécessiter des prélèvements de moelle osseuse [97].

La mise en évidence du virus est réservée aux laboratoires spécialisés, et n'est pas réalisée en routine du fait des contraintes techniques de leur réalisation.

2. Détection d'Ag intracellulaires: immunofluorescence indirecte

Cette technique a été développée par Hardy en 1973 [65].

La microscopie électronique ayant mis en évidence le FeLV dans les leucocytes et les plaquettes, il a été suggéré que les antigènes p27 devaient être également présents dans le cytoplasme de ces cellules [34], et c'est cet antigène qui va être recherché, à la fois en position intracytoplasmique par immunofluorescence ou libre dans le plasma par immunomigration et ELISA .

Contrairement aux antigènes d'enveloppe spécifiques des sous-groupes (FeLV-A, FeLV-B, FeLV-C), les antigènes du noyau sont identiques pour tous les sous-groupes; la détection de p27 permet donc de détecter les infections par le FeLV-A, -B et -C [34].

a. Principe

Les antigènes p27 intracytoplasmiques sont mis en évidence par une fluorescence détectable au microscope, via la formation de complexes anticorps-antigènes [28, 30, 34, 65]. Les antigènes p27 sont recherchés sur des frottis sanguins ou des frottis de moelle osseuse [44].

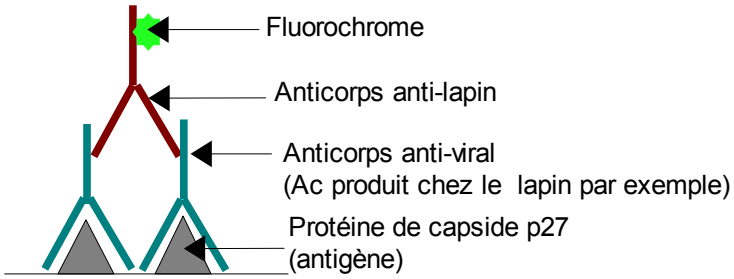
Un sérum de lapin contenant des anticorps anti-FeLV est incubé avec le frottis: si des antigènes p27 sont présents sur le frottis, il y a formation de complexes anticorps-antigènes. Les anticorps de lapin non fixés sont éliminés par lavage. Puis des anticorps anti-Ig de lapin marqués par un fluorochrome sont mis en contact de la lame. Ils se fixent au complexe anticorps-antigène qui s'est formé si p27 était présent dans le prélèvement [97].

Il s'agit d'une immunofluorescence indirecte (ou IFA, indirect fluorescent-antibody assay), schématisée sur la figure 6

Sous microscope à fluorescence, les complexes marqués par le fluorochrome apparaîtront vert pomme.

Le fluorochrome est caractérisé par une longueur d'onde d'excitation, et une longueur d'onde d'émission de fluorescence; des filtres sont nécessaires pour sélectionner ces longueurs d'ondes. Un filtre d'excitation sélectionne les longueurs d'onde excitant le fluorochrome; un filtre d'émission ne laisse passer que les radiations émises par le fluorochrome, et qui pourront être observées si des couples anticorps marqués-antigènes se sont bien formés.

Figure 6: Principe de l'immunofluorescence indirecte



La figure 7 montre un frottis sanguin de chat infecté.

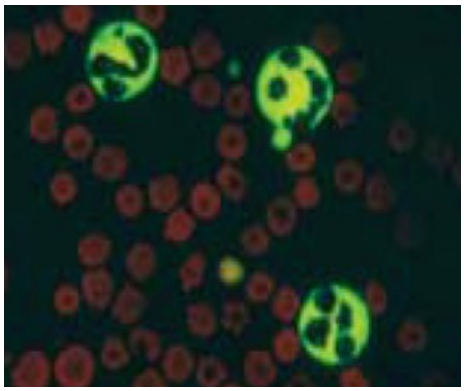


Figure 7: Immunofluorescence de plaquettes et de globules blancs contenant p27 sur un frottis sanguin de chat infecté. [25]

Généralement, tous les leucocytes sont infectés, ou pas. Parfois, on met en évidence une fluorescence partielle, dans 10 à 90% des leucocytes. Ce résultat est interprété comme « positif » par le laboratoire. Il est cependant souhaitable qu'il précise cette particularité, et que l'immunofluorescence soit réitérée 1 mois plus tard, pour préciser si la fluorescence concerne alors tous les leucocytes, ou aucun, confirmant ou pas une infection probablement persistante. [75]

Ainsi, sur 46 chats présentant un résultat positif en immunofluorescence, la fluorescence a été mise en évidence particulièrement dans les neutrophiles, les monocytes et les plaquettes, et dans plus de 90% de ces cellules sur les frottis; dans quelques cas, les lymphocytes présentaient également une fluorescence [59].

b. Prélèvements nécessaires

L'immunofluorescence se réalise sur des frottis de nature variée, cette technique ayant été utilisée pour suivre la progression du virus dans l'organisme et déterminer sa pathogénie [32].

En pratique, le frottis est issu soit de sang total, soit, lorsque les cellules blanches sont présentes en faible quantité dans le sang [59], du buffy coat (fine couche de leucocytes et de plaquettes au dessus de la couche érythrocytaire à l'issue de la centrifugation de l'échantillon sanguin). Certaines études recherchent l'antigène p27 par immunofluorescence sur des frottis de moelle osseuse [44].

Le sang peut être prélevé sur tubes héparinés ou EDTA, mais les anticoagulants sont sources d'erreurs (faux positifs ou faux négatifs), comme exposé dans la partie B. Les fixateurs de frottis peuvent également altérer les performances de l'analyse [5].

Le test par immunofluorescence se réalise donc préférentiellement à partir d'un prélèvement sans anticoagulant, étalé sur lame [103], sans fixateur [5]. Au moins 2 frottis doivent être envoyés [65]

2. Détection d'Ag libres circulants: immunomigration et Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

Alors que l'immunofluorescence détecte les antigènes présents dans les leucocytes et plaquettes, l'immunomigration et l'ELISA détectent les antigènes circulants [5, 34, 65]. En effet, p27 est libérée dans le milieu extracellulaire [30], et pourra être détectée.

Pour ces deux derniers tests, la présence d'anticorps anti-p27 dans le protocole de test est nécessaire; les chats infectés produisant peu de ces anticorps, d'autres espèces vont être utilisées pour produire les anticorps nécessaires à la mise en oeuvre des tests [32].

Le développement de tests rapides permet la réalisation des tests lors d'une consultation.

a. Immunomigration rapide

► *Principe*

Trois zones sont définies sur une plaque de migration.

La première, zone de dépôt de l'échantillon, contient:

- des particules (particules d'or colloïdal sensibilisées par exemple) portant des anticorps anti-p27
- des particules portant des complexes anticorps-antigènes témoins.

La seconde zone contient des anticorps anti-p27 fixés à la plaque de migration.

La troisième zone est la zone de contrôle, contenant les anticorps fixés, capables de lier les complexes anticorps-antigènes témoins.

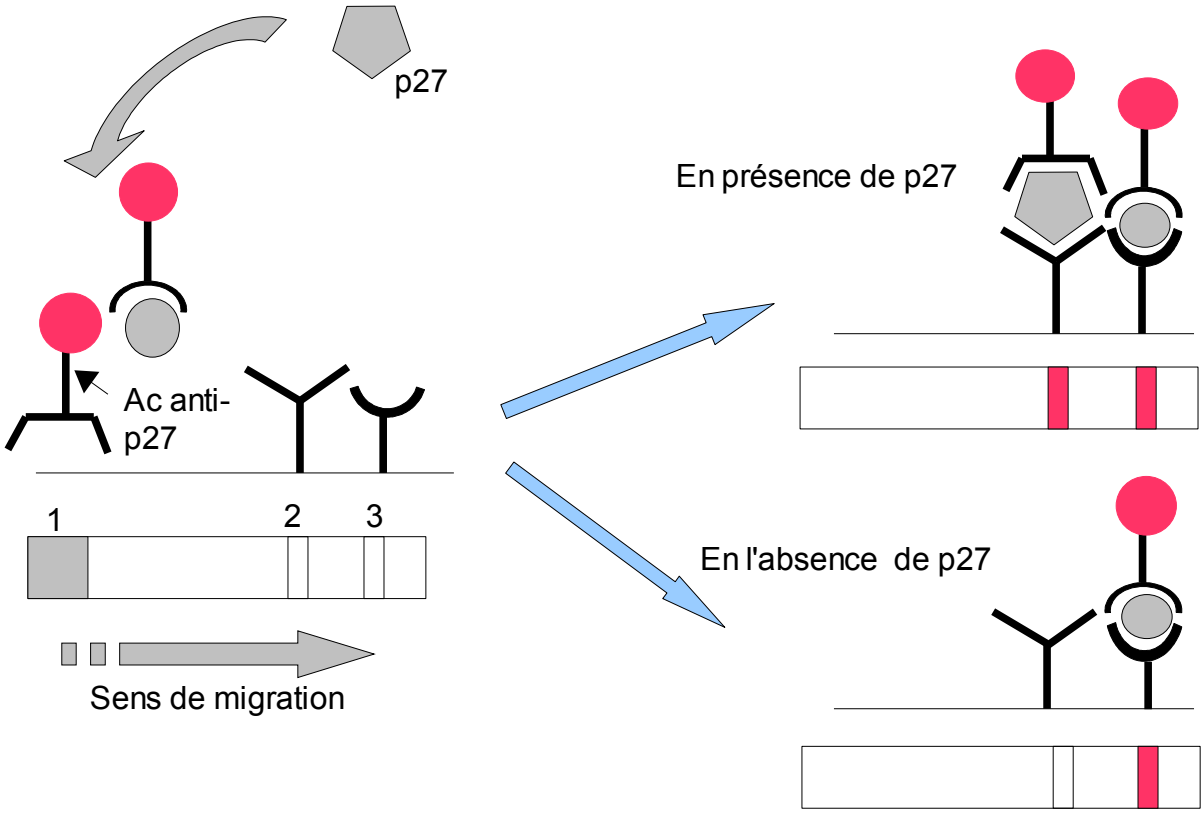
Lors de l'ajout de l'échantillon, les éléments de la première zone vont être entraînés et migrer sur la plaque vers les zones 2 et 3.

En présence de p27 dans l'échantillon, on aura formation initialement de complexes p27-anticorps anti-p27-particules dans la zone 1, qui vont migrer et se lier aux anticorps anti-p27 de la zone 2. Les particules colorées permettront de détecter la présence de ces complexes sur la zone 2.

Le principe pour la zone 3 est le même, avec les complexes de contrôle.

La figure 8 illustre le fonctionnement de l'immunomigration.

Figure 8: Principe de l'immunomigration



► *Prélèvements nécessaires*

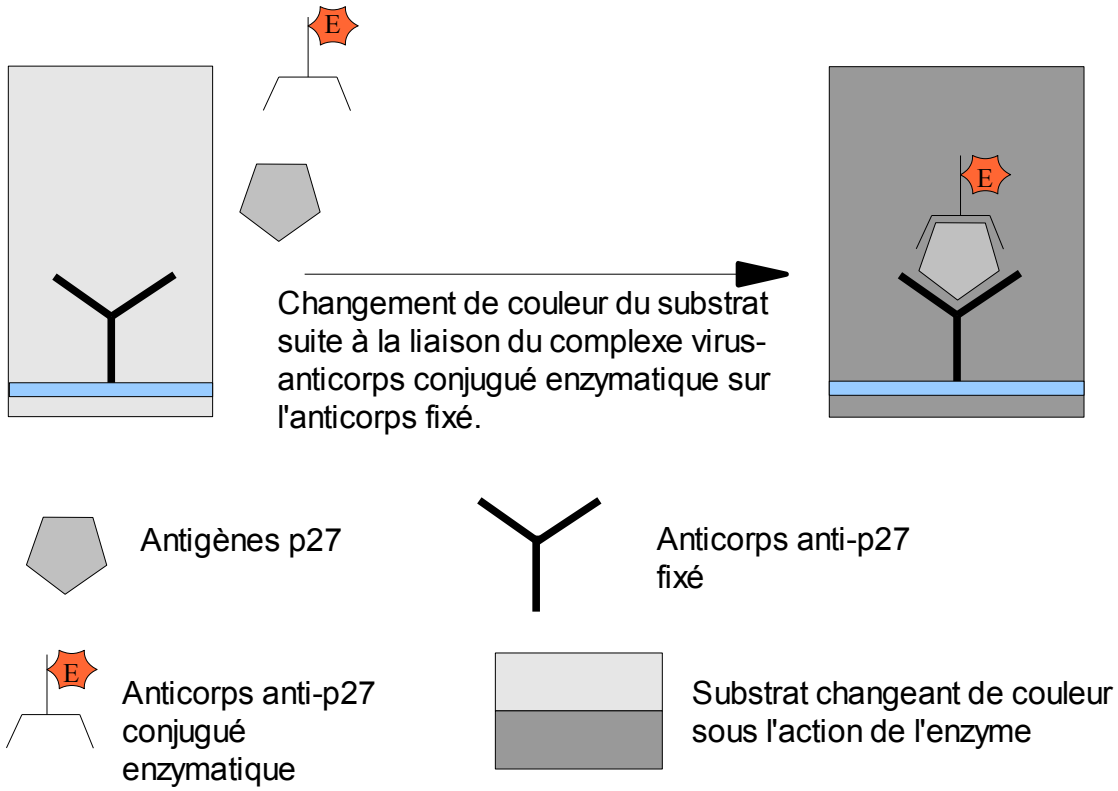
L'immunomigration s'effectue à partir de sang, de sérum ou de plasma.
Une attention particulière sera portée à l'absence d'hémolyse, qui peut rendre l'interprétation du test difficile. Ainsi, particulièrement lorsque la réalisation du test est différée de plusieurs heures, il est préférable de séparer le sérum ou le plasma des globules rouges [108].

b. ELISA

► *Principe*

Des anticorps anti-p27 « de capture » sont fixés à un substrat solide (plaque, membrane...). Les antigènes p27 éventuellement présents dans le prélèvement vont se fixer à ces anticorps par formation d'un couple antigène p27-anticorps anti-p27. Puis sont ajoutés des anticorps « détecteurs », conjugués à des enzymes. Ces anticorps sont également des anticorps anti-p27, et se fixent au précédent complexe. Lors de l'ajout d'un substrat spécifique, ces enzymes permettent une coloration ou un changement de couleur du substrat. C'est cette modification qui révèle la présence d'antigène p27 dans le prélèvement. En l'absence d'antigène p27 dans le prélèvement, les anticorps conjugués ne se fixant pas, le substrat n'est pas modifié. Ce fonctionnement est illustré par la figure 9.

Figure 9: Principe de l'ELISA



► *Prélèvements nécessaires*

Les tests ELISA sont réalisables sur des prélèvements sanguins, ou des sécrétions: larmes, salive, selon les tests. Enfin, l'utilisation d'ascite a été rapportée.

Sang, plasma ou sérum

Les tests réalisés à partir de sang nécessitent environ 0,2mL de sérum,

plasma, ou sang prélevé sur anticoagulant, et une éventuelle cytopénie n'affecte pas le test [50].

Salive et larmes

La salive ou les larmes sont également utilisables sur certains tests [5, 34, 70] et présentent de avantages en terme de manipulation: moins de stress pour le chat qu'une prise de sang, nombre de manipulateurs réduit à 1 seule personne, possibilité de prélever des larmes ou de la salive sur des animaux très débilités, alors que les prises de sang peuvent être difficiles [39, 40 ,70].

Le prélèvement de larmes se fait sur des bandelettes de tests de Schirmer par exemple; le volume de larmes obtenu lorsque la bandelette est saturée est de moins de 20µL en général. Après séchage à l'air, les bandelettes contenant les larmes peuvent être analysées pendant au moins 1 semaine après le prélèvement, et peuvent être envoyées au laboratoire pour analyse [39, 40].

La salive est soit prélevée sur du papier absorbant [75], ou un coton tige [70], soit directement sur une petite sphère imprégnée d'anticorps monoclonaux [39, 75].

Ascite

Une étude a utilisé l'ascite de chats suspects de péritonite infectieuse féline pour mettre en évidence des infections concomitantes par le FeLV ou le FIV, en se basant sur le fait qu'une partie des antigènes viraux peuvent passer dans les exsudats. Les résultats des tests sur ascite et sur sérum étaient concordants, et les titres en antigènes p27 étaient en moyenne 1,45 fois plus élevés dans l'ascite que dans le sérum. L'ascite a été considérée comme un support possible pour la réalisation des tests de dépistage de co-infection par les rétrovirus chez les chats suspects de péritonite infectieuse féline, et peut permettre d'éviter les prélèvements de sang chez des animaux débilités. Cependant, l'ascite est parfois très visqueuse, et cette viscosité peut gêner les analyses en l'absence d'étape de dilution [98].

Cependant, la plupart des tests se réalisent sur sang, sérum ou plasma.

3. La PCR

a. Principe

Le principe de la PCR consiste à réaliser une amplification sélective d'un court fragment d'ADN ou d'ARN, par réplications successives de ce fragment. Les fragments sont ensuite mis en évidence par électrophorèse ou hybridation marquée. Ainsi, des quantités infimes de génome viral peuvent être mises en évidence, après 30 ou 40 amplifications.

La séquence de la région U3 des LTR est très conservée au sein des FeLV exogènes (95% de similitudes), et diffère considérablement des LTR des FeLV

endogènes. Cette région U3 des LTR est donc une cible appropriée pour initier la PCR [6, 15, 44].

Dans le cas du FeLV, les techniques d'amplification d'acides nucléiques peuvent mettre en évidence l'ARN viral, l'ADN proviral ou les 2 simultanément, selon les techniques et supports biologiques utilisés par le laboratoire:

- l'ADN proviral, contenu dans le génome des leucocytes circulants sur sang total [30], ou dans un tissu infecté, est mis en évidence par PCR.
- l'ARN viral est mis en évidence par RT-PCR, technique de PCR précédée d'une étape de transcription de l'ARN viral en ADN, par la transcriptase-reverse (ou reverse-transcriptase, RT). L'utilisation de plasma permet de ne mettre en évidence que l'ARN viral libre.
- l'ADN proviral et l'ARN viral sont mis en évidence conjointement lors de réalisation de RT-PCR sur sang total ou tissus: la transcriptase-reverse transcrit l'ARN viral en ADN, amplifié ensuite par la PCR, tout comme l'ADN proviral.

Certains laboratoires réalisent des PCR, d'autres des RT-PCR. Par exemple, sur prélèvements sanguins, le laboratoire Scanelis propose en routine des RT-PCR sur sang total (recherche d'ARN viral et d'ADN proviral), et sur demande des RT-PCR sur plasma (recherche d'ARN viral uniquement), ou des PCR sur sang total (recherche d'ADN proviral uniquement). Le laboratoire Idexx recherche lui en routine l'ADN proviral, par PCR.

L'avantage principal par rapport aux autres méthodes est que la PCR détecte le virus même s'il ne se multiplie pas, sous forme de provirus, donc les infections latentes.

b. Étapes de la PCR classique

Les étapes préliminaires de la PCR consistent en l'extraction de l'ADN ou l'ARN cible, la purification de l'échantillon, l'élimination des inhibiteurs.

Si le matériel génétique est de l'ARN, une rétrotranscription est ensuite réalisée par une transcriptase-reverse.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont introduits dans un tube: ADN ou ARN à amplifier, polymérase, désoxyribonucléotides.

La PCR en elle même comporte ensuite 3 étapes (dénaturation, hybridation, élongation) se déroulant à des températures précises. Un thermocycleur permet d'amener le tube à ces températures, et pendant des temps prédéfinis, et de recommencer ainsi sur plusieurs cycles.

Initialement, une polymérase issue d'*Escherichia coli* (fragment de Klenow) était utilisée. Cette polymérase est thermosensible, et est altérée par les variations de températures nécessaires à un cycle de polymérisation. Elle devait donc être rajoutée dans le tube de réaction à l'issue de chaque cycle, augmentant les manipulations et les risques de contamination de l'échantillon. Actuellement, une polymérase thermostable est utilisée, issue d'une bactérie thermophile: *Thermus*

aquaticus. Cette Taq polymérase est stable au cours des cycles successifs, et permet de travailler à des températures élevées, limitant le risque d'appariement indésirable entre bases.

Les 3 étapes d'un cycle de PCR sont décrites ci dessous, et schématisées sur la figure 10.

► *Dénaturation de l'ADN*

Le tube est porté à plus de 90°C dans le thermocycleur (94°C pendant 30 secondes dans l'étude [14]), ce qui provoque la rupture des liaisons faibles entre les 2 brins d'ADN cible. L'ADN cible est alors présent sous forme de 2 brins simples, permettant une hybridation.

► *Hybridation*

En abaissant la température du tube, les amorces vont pouvoir s'hybrider sur les 2 brins simples cibles. Ces amorces sont spécifiques de l'agent recherché: bien choisie, leur séquence ne leur permet de s'hybrider que sur le fragment recherché du génome du pathogène: ceci explique la spécificité de la PCR. La température dans le thermocycleur est alors comprise entre 40 et 65°C, et est calculée en fonction de la longueur et de la séquence des amorces (55°C pendant 30 secondes dans l'étude [14]).

► *Élongation*

La polymérase permet ensuite l'élongation à partir des amorces, de l'extrémité 5' vers 3', en augmentant la température dans le thermocycleur entre 70 et 75°C (72°C dans l'étude [14]). Les désoxyribonucléotides présents en excès dans le tube se lient aux bases complémentaires de l'ADN cible au passage de la polymérase, synthétisant ainsi 2 nouveaux brins. L'extrémité 5' de ces brins est bien définie, limitée par l'amorce. Par contre, la polymérase produit souvent des brins plus longs que souhaité, par élongation en 3': on parle de « brins longs » pour les brins nouvellement synthétisés. Le tube contient alors les 2 brins d'ADN initiaux, et 2 brins longs.

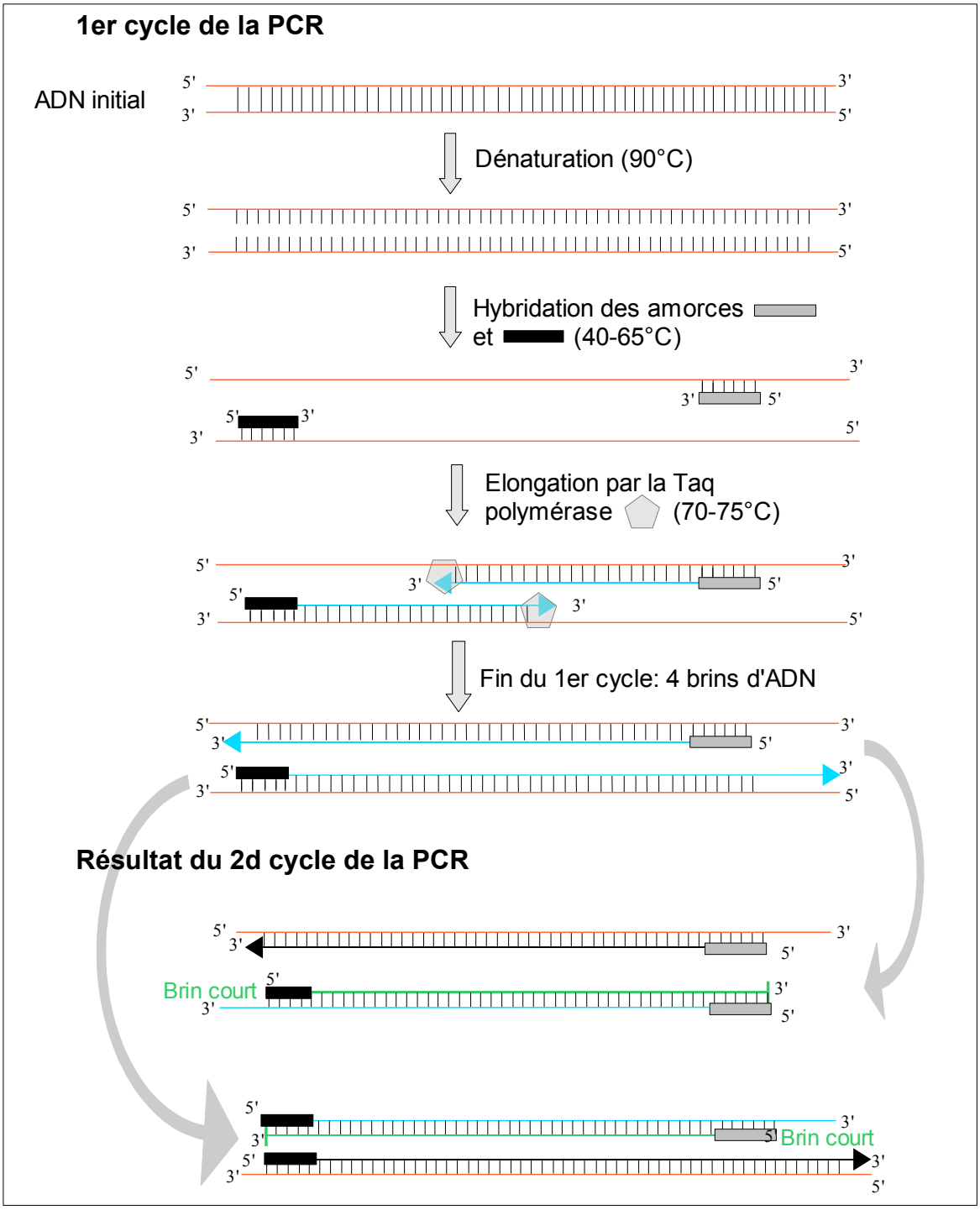
Le second cycle s'effectue de la même façon. Par contre, à l'issue du 2d cycle, on aboutit à la production de brins de longueur souhaitée: la polymérase a synthétisé de nouveaux brins de 5' vers 3', à partir de brins « supports », à extrémité 5' bien définie. Ces brins de longueur souhaitée sont appelés « brins courts ». Le tube contient alors les 2 brins d'ADN initial, 4 brins longs, et 2 brins courts.

Le 3ème cycle aboutit à la présence dans le tube de 4 brins courts, de longueur souhaitée. A chaque cycle, la quantité de brins courts augmente beaucoup plus que la quantité de brins de longueur indéfinie, ceux ci étant synthétisés à partir de l'ADN initial, dont la quantité ne varie pas. La quantité de brins longs devient rapidement négligeable par rapport à la quantité de brins courts. Au total, 30 à 40 cycles sont effectués, et permettent d'aboutir, en environ 2 heures, à plusieurs milliards de fragments identiques. De très petites quantités de matériel génétique sont ainsi détectables: la PCR a une très grande sensibilité.

► *Détection des produits amplifiés*

L'ADN est rendu fluorescent sous lumière UV grâce à du bromure d'éthidium, et mis en évidence par électrophorèse sur un gel d'agarose [29].

Figure 10: Principe de la PCR classique



c. PCR particulières

► *PCR nichée [9]*

La PCR nichée utilise 2 couples d'amorces différentes pour réaliser 2 PCR successives : Le premier couple d'amorces amplifie la zone recherchée pendant environ 20 cycles, puis une seconde PCR est réalisée sur les produits de la première, à l'aide du second couple d'amorces. La seconde paire d'amorces permet ainsi de vérifier la spécificité des premières réactions. Le transfert des produits de la première PCR dans un nouveau milieu de réaction dilue les inhibiteurs éventuellement présents.

Cette double amplification permet en outre d'abaisser les seuils de détection des pathogènes, en amplifiant encore plus l'ADN que la PCR classique, et donc augmente la sensibilité de cette PCR par rapport à la PCR classique.

► *PCR quantitative ou temps réel [9]*

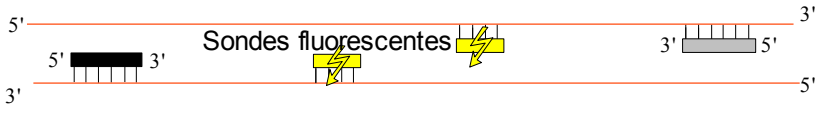
La PCR quantitative utilise l'hybridation d'une sonde fluorescente sur le fragment cible pour détecter les brins néoformés., comme schématisé sur la figure 11. La fluorescence indique la présence de l'ADN recherché, et l'électrophorèse, source d'erreurs, utilisée dans la PCR classique est inutile.

L'utilisation de cette sonde fluorescente augmente encore la spécificité de l'analyse: elle ne peut s'hybrider que sur le fragment cible, en l'absence du fragment, il n'y aura pas de fluorescence.

La sensibilité par rapport à une PCR classique est également améliorée: une fluorescence faible peut être mise en évidence à l'issue de très nombreux cycles quand peu de matériel est présent au départ, tandis que sur une électrophorèse, le résultat sera négatif faute de matériel suffisant pour être détecté. Le seuil de détection est très faible.

Enfin, cette méthode est quantitative: l'intensité de la fluorescence est liée à la quantité de copies de génomes, et au nombre de cycles. On peut en déduire la quantité initiale de séquences cibles.

Figure 11: Hybridation de sondes fluorescentes lors de réalisation de PCR quantitative ou temps réel.



e. Prélèvements nécessaires

Les analyses PCR ou RT-PCR peuvent être réalisées sur différents prélèvements [10]:

- sang total non centrifugé; l'anticoagulant doit être l'EDTA.
- cellules oropharyngées en cas de stomatite ou gingivite; les cellules sont prélevées avec une cytobrosse, placée dans un tube sec ou ETDA; le prélèvement doit être assez riche en cellules. Il est conseillé d'envoyer dans le même temps du sang (sur EDTA)
- liquide céphalo-rachidien si l'animal présente des troubles nerveux. Le LCR est placé dans un tube EDTA
- humeur aqueuse dans les formes oculaires (uvéites), sur tube EDTA
- moelle osseuse, placée soit dans un tube EDTA, soit laissée dans la seringue de prélèvement
- organes ou biopsies, non fixés, mais congelés: lymphosarcomes [112], moelle épinière, intestin, rate, noeuds lymphatiques, moelle osseuse, cerveau, rein [14], tumeurs oculaires [100]. Les prélèvements sur cadavres déjà congelés sont également possibles.

Le plasma ne permet de réaliser qu'une RT-PCR pour mettre en évidence l'ARN viral libre, et non une PCR pour rechercher l'ADN proviral.

Une attention particulière doit être apportée à la technique de prélèvement:

- la zone prélevée ne doit pas être nettoyée ou désinfectée [10]
- l'introduction d'acides nucléiques autres que ceux de l'animal prélevé est à éviter, ainsi que les contaminations croisées lors de prélèvements de plusieurs animaux successivement [10, 34].

Les envois de sang, cellules oropharyngées, moelle osseuse peuvent se faire par envoi postal, à température ambiante. Une étude a montré que l'ARN viral et l'ADN proviral étaient stables pendant plus de 64 jours dans les échantillons de salive à température ambiante [27].

L'ARN étant cependant moins stable que l'ADN, un envoi rapide est cependant préférable [29]. Les organes ou biopsies congelés peuvent être expédiés en respectant la chaîne du froid.

5. Détection d'anticorps

Il est possible également de mettre en évidence les anticorps neutralisants (anticorps anti-gp70) et les anticorps anti-FOCMA suite à une infection [20, 60, 85].

La mise en évidence des anticorps neutralisants se fait par séro-neutralisation, et celle des anticorps anti-FOCMA par immunofluorescence. Ces tests sont réalisés dans des laboratoires spécialisés, mais non utilisés en routine [20, 60].

B. Performances des différentes méthodes

1. Évolution de la maladie, positivité des tests, et notion de tests discordants

a. Lors des différents stades de l'infection

On reconnaît 6 stades à l'évolution de la maladie [68]. Les différents tests vont se positiver à des stades particuliers de la maladie. La figure 12 rapporte les stades de positivité de plusieurs tests.

Les trois premiers correspondent aux stades précoces, avant l'infection de la moelle osseuse.

Au stade 1, le virus se réplique dans la région oro-pharyngée. Il n'y a ni virus ni antigènes, ni anticorps détectables dans le sang périphérique à ce stade. La recherche de matériel génétique viral dans le sang périphérique sera également négative à ce stade. Par contre, suite à une réplication virale très active dans les tissus oropharyngés, la salive peut parfois contenir des quantités d'antigènes suffisantes pour être détectées par ELISA, très précocement après l'exposition virale [39].

Au stade 2, le virus se multiplie, mais la virémie est limitée aux lymphocytes et macrophages. Les antigènes produits en excès lors de la réplication virale et libérés dans la circulation sanguine seront détectables, ainsi que le matériel génétique viral.

L'isolement viral va progressivement devenir possible. Expérimentalement, il a été permis de mettre en évidence le virus dans le plasma de 2 chatons dès 10 jours après l'infection. L'isolement viral dans la salive est possible 1 semaine après l'isolement viral dans le sang [55].

Après cette première virémie, les tests basés sur la recherche d'antigènes libres circulants dans le sang (ELISA et immunomigration) vont être positifs, et le resteront. Cette positivité intervient de 4 à 6 semaines après l'infection. Après des infections expérimentales, les antigènes p27 étaient détectables dans le sang dans un délai de 18 jours à 28 jours après l'infection, 3 à 7 jours après l'isolement viral [11, 34, 55, 58, 112].

Les antigènes p27 seront détectables dans la salive environ une semaine et demi après leur présence dans le sang selon une étude [70].

La moelle osseuse n'étant pas infectée, il n'y a pas de libération de lymphocytes et plaquettes contenant l'antigène p27. L'immunofluorescence sera donc négative, tandis que l'ELISA sera positive. L'isolement viral peut être négatif également. [5, 57, 58, 69, 85]

La RT-PCR ou la PCR sur sang total donnent des résultats positifs 1 à 2 semaines avant que les antigènes soient détectables, et est donc plus précoce que l'ELISA. De plus; la PCR est plus sensible que l'isolement viral pendant les phases précoces de l'infection: ceci peut être dû à la présence de virus incapable de se répliquer et d'être mis en évidence en culture cellulaire, mais dont le matériel

génétique est détectable par PCR [102].

Le stade 3 est un stade de réplication massive dans le tissu lymphoïde systémique. Il n'y a pas de différence quant aux résultats des tests par rapport au stade 2. Certains chats développent des anticorps séroneutralisants et des anticorps anti-FOCMA pour éliminer l'infection.

Au stade 4, la moelle osseuse est atteinte, et il y a libération de lymphocytes et de plaquettes infectés dans la circulation sanguine, 6 à 8 semaines après l'infection [5, 34]. L'immunofluorescence sera alors positive. Après une infection expérimentale, les antigènes ont pu être mis en évidence dans quelques neutrophiles dès le 14ème jour après l'infection; au 25ème jour après l'infection, 90% des leucocytes contenaient l'antigène p27 [55].

Les tests ELISA sur salive ou larmes sont plus susceptibles de se positiver à partir du moment où la moelle est infectée [39], lorsque de hautes concentrations en antigènes sont atteintes dans le plasma [4], assez tardivement, au minimum 4 à 8 semaines après l'infection. Sur des chats infectés expérimentalement, un délai d'une dizaine de jours a été nécessaire entre l'apparition d'antigènes dans le sérum et leur apparition dans la salive [39].

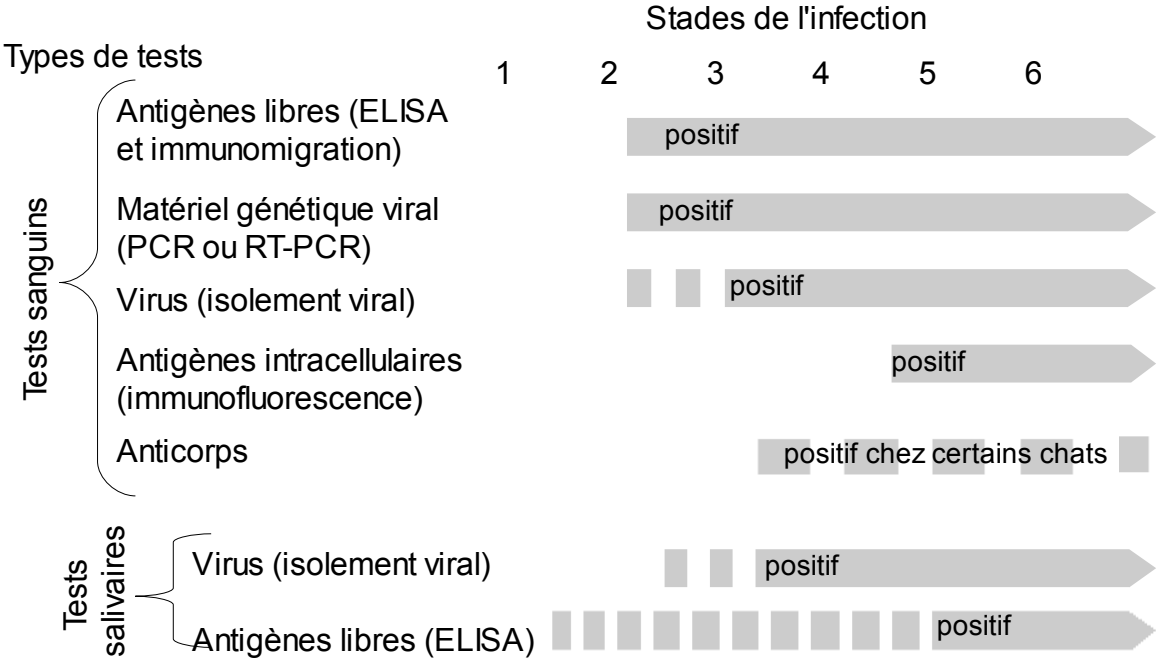
La PCR et la RT-PCR (recherche de l'ARN viral, et de l'ADN proviral) donneront des résultats positifs sur sang (prélèvement le plus couramment envoyé à ce stade).

Les stades 5 et 6 correspondent à la virémie d'origine médullaire, et à l'excrétion virale suite à l'infection des épithélium glandulaires et muqueux. Il n'y a pas de différence concernant les résultats des tests par rapport au stade 4.

Une étude rapporte que la sensibilité des tests sur larmes est moins bonne lorsque les chats ont été infectés expérimentalement depuis moins de 6 mois, par rapport aux chats infectés depuis plus longtemps [39].

L'immunomigration se basant sur la même recherche d'antigènes p27 circulants que le test ELISA, la positivité sur sang interviendra au même moment.

Figure 12: Positivité de tests en fonction des différents stades de l'infection.



b. Lors des différentes issues de l'infection

► *Suite à une infection transitoire: chats immuns*

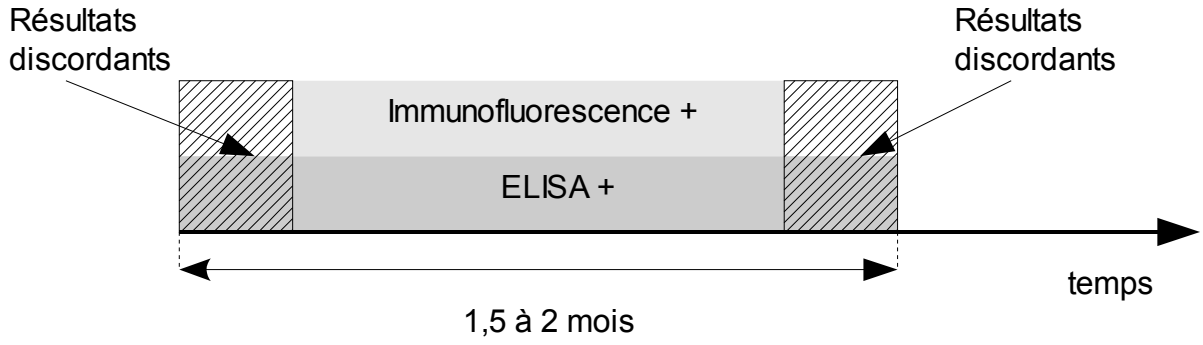
Les chats immuns ont présenté une période de multiplication virale transitoire. L'extension de l'infection a été variable, puisque l'infection peut être enrayée plus ou moins tardivement (jusqu'après le stade 5), avec une virémie et une multiplication virale qui a pu être importante, et libération d'antigènes viraux dans la circulation sanguine. Les chats ont développé des anticorps neutralisants et des anticorps anti-FOCMA. Au stade immun, les chats ont totalement éliminé le virus.

A l'issue de ces phases, il est parfois possible de mettre en évidence des antigènes circulants (tests ELISA et immunomigration positifs), mais l'isolement viral sera négatif [69], tout comme la PCR.

La moelle osseuse n'est pas (ou plus) infectée, et l'immunofluorescence sera négative. On peut donc être face à des tests ELISA positifs, tandis que l'immunofluorescence sera négative [56, 58].

Ces périodes de discordances sont illustrées par la figure 13.

Figure 13: Cinétique des résultats des tests ELISA et immunofluorescence lors de virémie transitoire



Lorsqu'on se trouve à distance de l'infection, seuls pourront être positifs les tests de mise en évidence d'anticorps neutralisants ou anti-FOCMA.

Une étude rapporte le cas d'un chat testé positif par test ELISA sur sang, et négatif par tests IFA et PCR sur sang et moelle: si le test ELISA n'est pas un faux positif, et que les tests IFA et PCR ne sont pas des faux négatifs (peu probable), le chat a présenté une virémie intermittente, ou bien une infection séquestrée (décrite plus loin) [44].

La coexistance entre un test ELISA positif et une immunofluorescence négative est très fréquente: cette situation représente 10% des antigénémiques [78]; l'hypothèse d'une infection transitoire est à retenir.

► *Suite à une infection transitoire: chats infectés latents*

Lors d'infection latente, une réponse immune efficace permet de contrôler l'infection, et de maintenir le virus à l'état quiescent dans la moelle osseuse. Le génome viral est intégré à l'ADN des cellules de la moelle osseuse sous forme d'ADN proviral, et transmis aux cellules filles lors de la division cellulaire. La réponse immunitaire empêche la croissance et la dissémination des cellules infectieuses, et modère la production d'antigènes. La réplication virale est nulle ou minime. Il n'y a pas de virémie, et l'antigénémie n'est pas ou très rarement mise en évidence. [34, 42,56, 78]

L'isolement viral et l'immunofluorescence seront toujours négatifs. Les tests basés sur la détection d'antigènes libres seront dans la très grande majorité des cas négatifs [2, 34, 56, 78].

Par contre, la PCR ou la RT-PCR sur sang total, capables de détecter l'ADN proviral intégré dans le génome cellulaire, sont positives [2, 28, 34, 88]. La RT-PCR sur plasma est négative (pas d'ARN viral libre).

Des PCR réalisées sur la moelle osseuse de chats présentant une myélosuppression ou sur des tissus de chats à lymphosarcomes ont mis en évidence des infections latentes par le FeLV, sous forme d'ADN proviral, alors que les recherches d'antigènes viraux avaient été négatives [34].

De plus, 10% de chats suspectés d'être infectés par le FeLV, mais qui donnaient des résultats négatifs aux tests basés sur la recherche d'antigènes, ont été testés positifs par PCR sur sang ou moelle osseuse, laissant supposer une infection latente [34]. De même, l'ARN viral a été mis en évidence par RT-PCR dans certains lymphosarcomes sur des chats testés négatifs par recherche d'antigènes: les chats avaient très probablement une infection latente, ou bien étaient porteurs d'un virus incapable de se répliquer [49].

En utilisant la PCR nichée et la PCR temps-réel, le génome proviral a pu être détecté chez 10% de chats exposés naturellement ou expérimentalement au FeLV [34].

Les tests ELISA, l'immunomigration, l'immunofluorescence et l'isolement viral à partir du sang seront donc négatifs. Par contre, la PCR sur sang ou moelle osseuse pourra mettre en évidence le provirus. Les anticorps neutralisants sont également détectables [34].

► *Chats progresseurs, virémiques persistants*

La virémie est constante chez ces chats: le virus se multiplie, les antigènes produits en excès sont libérés dans le plasma. Tous les tests de mise en évidence du virus ou de p27 réalisés sur le sang seront positifs (isolement viral, immunofluorescence, ELISA, immunomigration, PCR), ainsi que la recherche d'antigènes sur salive ou larmes [75]. En début d'infection, les antigènes p27 libres seront mis en évidence plus précocement que les antigènes intracellulaires, comme illustré par la figure 14.

Les anticorps neutralisants ne seront par contre pas présents, et la recherche du FOCMA donnera des résultats inconstants [34].

Lors de la quantification de la charge provirale de chats infectés, il apparaît que les chats infectés persistants montrent, 4 semaines après l'infection, des charges provirales plus élevées que les chats à antigénémie transitoire. Ces chats infectés persistants ne présentent pas une réponse immunitaire suffisante pour contrôler l'infection. La mesure de la charge provirale peut rapidement après l'infection indiquer quelle sera l'issue de l'infection [45].

Figure 14: Cinétique des résultats des tests ELISA et immunofluorescence lors de virémie persistante

► *Chats à infection localisée/séquestrée*

Lors d'infection localisée ou séquestrée, l'infection virale est limitée à un territoire par la réponse immunitaire.

Le virus, s'il n'est pas défectif, se réplique dans les tissus. Lorsque l'infection est séquestrée aux épithéliums, il peut y avoir excrétion virale dans les sécrétions, par exemple les urines, ou le lait, et le chat peut transmettre le virus à ses congénères [56, 65].

Les antigènes produits lors de cette réplication virale peuvent parfois passer dans le sang, tandis que le virus est restreint aux épithéliums [57], ou est relargué en quantités trop faibles pour être détecté dans le sang par les techniques habituelles [84]. L'isolement viral sur le sang est donc négative. Par contre, les recherches d'ARN viral ou de provirus sur les tissus infectés sont positifs, ainsi que les recherches d'antigènes viraux sur les tissus si le virus s'y réplique.

Ainsi, il a été rapporté le cas d'un chat testé négatif par ELISA sur le plasma, mais chez lequel l'ARN viral a été trouvé dans la salive. Ce chat avait très probablement une réplication virale très active, mais uniquement localement, dans les glandes salivaires [28].

De même, une publication expose le cas d'un chat présentant un lymphome cutané, lié au FeLV, mais testé négatif par test ELISA sur sang. Des antigènes viraux et du matériel génétique viral ont été mis en évidence dans les cellules des

biopsies de peau, mais pas d'antigènes libres dans le sang. La présence d'antigènes viraux dans les cellules malignes mais pas dans le sang oriente vers une infection séquestrée, mais productive. [23].

Ainsi, lors d'infections localisées, ne touchant pas la moelle osseuse, les tests recherchant les antigènes libres dans le sang donnent des résultats positifs ou négatifs, tandis que l'immunofluorescence est toujours négative, tout comme l'isolement viral sur sang ou la PCR sur sang. La PCR sur les tissus infectés est positive par contre, tout comme la recherche d'antigènes viraux sur les tissus infectés si le virus se réplique. [34, 56, 58, 65, 69, 75, 85, 88]

Ces chats présentant des résultats discordants pendant plusieurs mois, voir années, sont généralement issus de communautés avec antécédents d'infection par le FeLV.

c. Résultats des tests et interprétation

Les résultats d'un isolement viral, d'une immunofluorescence, d'une recherche d'antigènes libres (test ELISA) et de génome viral ou proviral, tous réalisés sur le sang total, peuvent être discordants, comme exposé ci dessus. Le tableau 9 permet de faire une synthèse de ces résultats et de donner le statut théorique du chat en fonction de ces résultats (d'après [74, 79])

Tableau 9: Statut théorique des chats en fonction des résultats de l'isolement viral, de l'immunofluorescence et de l'ELISA (d'après [74, 79])

Tests de détection réalisés sur sang total				Interprétation
Isolement viral	Immuno-fluorescence	p27 libre (ELISA)	PCR ou RT-PCR	
-	-	-	-	Absence de contact Animaux guéris Infection séquestrée
-	-	-	+	État de latence (provirus mis en évidence)
+	+	+	+	Chat virémique, source de contamination pour les autres chats
-	-	+	+	Chat antigénémique: - début ou fin d'infection transitoire - état de latence
+	-	+	+	Réplication virale limitée à des territoires extra-médullaires
Toutes autres situations				Impossible : existence de faux positifs ou de faux négatifs parmi les tests

2. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative

a. Définitions et interprétation

Les définitions et la compréhension des termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative sont indispensables pour pouvoir interpréter correctement les résultats des tests.

► *Sensibilité*

La sensibilité d'un test de dépistage correspond à son aptitude à identifier correctement les animaux infectés, grâce à une réponse positive.

Se= vrais positifs/(vrais positifs + faux négatifs)

► *Spécificité*

La spécificité d'un test de dépistage correspond à son aptitude à identifier correctement les animaux indemnes, grâce à une réponse négative.

Sp= vrais négatifs/(vrais négatifs + faux positifs)

Sensibilité et spécificité ne dépendent pas de la fréquence de la maladie, et pour cette raison, sont qualifiées d'intrinsèques.

► *Valeur prédictive positive*

La valeur prédictive d'un résultat positif (ou valeur prédictive positive, VPP) peut se définir comme « la probabilité qu'une réponse positive à un test de dépistage corresponde bien à un organisme infecté ».

VPP= vrais positifs / (vrais positifs + faux positifs)

Le numérateur (vrais positifs) sera d'autant plus élevé, et donc la VPP élevée, que le test est sensible. Le dénominateur sera également faible (et la VPP élevée donc) si le nombre de faux positifs est faible, et que donc la spécificité est élevée. La fréquence de la maladie va aussi influer sur la valeur de la VPP: si la maladie est très fréquente, le nombre de vrais positifs sera bien supérieur au nombre de faux positifs, et donc le rapport VP/(VP+FP) élevé, et donc la VPP élevée. Au contraire, si la maladie est rare, il y aura très peu de vrais positifs par rapport aux faux positifs, et la VPP sera faible.

Les variations de la VPP en fonction de la prévalence de l'infection sur une population de 10000 animaux, en utilisant un test de sensibilité=99% et spécificité=98%, sont illustrées par le tableau 10:

Tableau 10: Évaluation de la valeur prédictive positive d'un test en fonction de diverses prévalences.

Prévalence	Vrais positifs	Faux positifs	Total des positifs	VPP
20%	1980	160	2140	92,5%
10%	990	180	1170	84,6%
1%	99	198	297	33%

► *Valeur prédictive négative*

Inversement, la valeur prédictive d'un résultat négatif (ou valeur prédictive négative, VPN) se définit comme la probabilité qu'une réponse négative à un test de dépistage corresponde bien à un organisme indemne.

VPN=vrais négatifs/(vrais négatifs + faux négatifs)

Plus la maladie est rare, plus la VPN est élevée.

► *Interprétation*

Les performances des tests doivent donc être évaluées en prenant en compte ces notions.

Les seules sensibilités et spécificités ne suffisent pas pour interpréter correctement un résultat. La prévalence de la maladie dans la population étudiée doit impérativement être prise en compte [65, 87].

Ainsi, un résultat positif sur un chat cliniquement sain issu d'une population où la prévalence du FeLV est très faible, ne doit pas être accepté comme tel: la valeur prédictive de ce test est très faible. A l'opposé, un test positif sur un chat issu d'une population fortement contaminée aura une valeur prédictive positive bien plus élevée que le précédent, tout comme sur un chat à lymphome thymique.

L'interprétation du test sera donc différente, selon la prévalence de l'infection: les vétérinaires réalisent souvent un test FeLV sur les chats malades présentés, quels que soient leurs symptômes, et ce test fait partie intégrante des examens complémentaires. Cette démarche était acceptable lorsque la prévalence de l'infection par le FeLV était très élevée. Désormais, la valeur prédictive positive des tests ELISA est bien plus faible, l'incidence de l'infection diminuant. [51, 65, 69]

Actuellement, les tests rapides sont particulièrement intéressants pour déterminer à partir d'un résultat négatif qu'un chat sain n'est pas porteur du FeLV [69, 101] et pour éliminer le FeLV du diagnostic différentiel chez un chat malade [52].

b. Valeurs pour chaque méthode

La majorité des études évaluent les spécificités et sensibilités des tests en fonction d'un test de référence. Cependant, il n'y a pas d'unanimité sur le test de référence lors de la recherche de l'infection par le FeLV: pour certains, il s'agit de l'immunofluorescence, pour d'autres de l'isolement viral. Cependant, ces deux méthodes ont des inconvénients. Par exemple, l'isolement viral, s'il a une bonne spécificité, voit sa sensibilité modifiée dans quelques cas. De ce fait, il est souvent difficile de déterminer avec une certitude absolue le statut réel du chat testé, et de s'appuyer sur ces tests pour calculer les sensibilités et spécificités des autres tests.

Pour pallier ces difficultés, des méthodes statistiques ont été développées, pour déterminer les performances intrinsèques des tests en l'absence de test de référence, notamment par l'intermédiaire d'une approche bayesienne, exploitée dans une publication récente pour déterminer les performances des tests utilisés en routine [89].

Cette étude a évalué à 97% la sensibilité de 2 tests basés sur l'immunomigration (Witness®), à 88% celle d'un test ELISA, et à 91% celle de l'isolement viral. Concernant les spécificités, elle est de 96% pour l'immunomigration, 98% pour l'ELISA, 99% pour l'isolement viral [89].

c. Études comparatives des tests rapides

► *Étude 1: étude comparative de 6 tests rapides sur 800 sérums [37]*

Une étude sur 800 échantillons de sérums a été menée pour comparer les performances de 6 tests rapides, dont les tests Speed duo® et Witness®.

Les sérums provenaient de chats présentant une pathologie possiblement liée à une infection par le FeLV, ou de chats sains, testés avant une vaccination contre le FeLV. Tous les prélèvements sont soumis aux 6 tests. En cas de résultat positif sur au moins un des tests rapides, l'isolement viral est utilisé sur l'échantillon pour déterminer le statut du chat.

Ainsi, un résultat positif sur un test rapide associé à un isolement viral positif est considéré comme un vrai positif. Un résultat positif sur un test rapide associé à un isolement viral négatif est considéré comme un faux positif. Un test rapide négatif sur un échantillon qui n'a donné que des tests rapides négatifs ou qui a donné un isolement viral négatif suite à un test rapide positif est considéré comme un vrai négatif. Un test rapide négatif sur un échantillon qui a donné un isolement viral positif est considéré comme un faux négatif.

La qualité des tests est évaluée sur plusieurs critères: le pourcentage de tests invalides (absence d'apparition de la bande de contrôle, couleur de fond gênant la lecture...), le pourcentage de tests difficilement interprétables, la sensibilité (pourcentage de tests à donner un résultat positif aux animaux infectés), la spécificité (pourcentage de tests à donner un résultat négatif aux animaux non infectés), la valeur prédictive positive (probabilité qu'un animal ayant un test positif soit réellement infecté), la valeur prédictive négative (probabilité qu'un animal ayant un test négatif soit réellement indemne).

Dans cette étude, la prévalence de l'infection par le FeLV était de 8,6%. Cette donnée est à prendre en compte dans l'analyse des résultats, les valeurs prédictives positive et négative dépendant de la sensibilité et de la spécificité du test, mais également de la prévalence de l'infection. Pour une prévalence plus faible, la valeur prédictive positive sera plus faible, et la valeur prédictive négative sera plus élevée.

► *Étude 2: étude comparative de 8 tests rapides sur 528 sérums [38]*

Les échantillons de sérum proviennent de chats souffrant de diverses affections, ou de chats testés avant une vaccination. Les échantillons donnant au moins 1 test rapide positif ont été retestés par isolement viral, considéré comme méthode de référence. La prévalence de l'infection par le FeLV était de 7,4% dans la population testée.

Les résultats de ces 2 études, pour les tests rapides actuellement disponibles en France sont consignés dans le tableau 11

Tableau 11: Résultats des évaluations des performances de 3 tests rapides par 2 études (d'après [37, 38])

	Immunochromatographie/ Immunomigration				ELISA
	Duo Speed BVT		Witness Synbiotics		Snap Combo Idexx
	[37]	[38]	[37]	[38]	[38]
Tests invalides (%)	0,3	1,9	13,6	1,3	0,6
Tests difficilement interprétables (%)	4,0	1,5	20,1	13,8	0,4
Sensibilité (%)	89,6	94,7	66,6	92,1	92,3
Spécificité (%)	98,1	99,2	98,7	97,5	97,3
Valeur prédictive positive (%)	81,1	90,0	83,3	74,5	73,5
Valeur prédictive négative (%)	99,0	99,6	96,9	99,4	99,4

Le test Duo Speed® a des performances tout à fait acceptables: peu de tests invalides ou difficilement interprétables, des sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative élevées [37]. La 2de étude confirme les résultats précédents: le test Duo Speed® présente les meilleures performances générales, avec très peu de tests invalides ou difficilement interprétables, et doit être considéré comme le meilleur test utilisable en clinique [38].

Le test SNAP Combo® présente de bonnes performances également.

Le test Witness® donne lui par contre un nombre très élevé de tests invalides ou difficilement interprétables dans cette étude, sans qu'une cause soit trouvée. Les valeurs prédictives positive et négative sont satisfaisantes par contre [37]. Ce très grand nombre de tests Witness® difficilement interprétables est retrouvé dans la 2de étude. Au vu du nombre de tests invalides, et qui doivent donc être réitérés, le test Witness® pose principalement un problème financier [37].

Une troisième étude rapporte 4 résultats faux positifs sur 477 échantillons de

sang testés avec le test Witness®. Tous ces faux positifs sont apparus sur des tests ayant montré une coloration de la bande positive à peine visible. L'apparition d'une bande à peine visible doit être considérée comme un résultat équivoque, et conduire à renouveler le test [93].

3. Facteurs influant sur les performances des tests

a. Nature du prélèvement

► *Immunofluorescence*

L'IFA peut être négative lorsque le frottis sanguin présente peu de leucocytes [5, 65, 75] ou de plaquettes. Un frottis sur le buffy coat ou sur moelle osseuse est intéressant dans ce cas.

► *ELISA*

L'utilisation de sang total pour réaliser un test ELISA conduit souvent à des réactions colorées moins intenses que si réalisées sur le sérum ou plasma du même animal, et expose au risque de faire apparaître plus de faux positifs qu'en utilisant du sérum ou du plasma, particulièrement s'il y a eu une hémolyse dans le prélèvement: la spécificité du test diminue, et les tests positifs doivent être confirmés par une autre méthode [5, 34, 41, 101, 112].

Certains faux négatifs pourraient être dûs à la présence d'une substance dans le sérum à l'origine d'une inhibition compétitive de la liaison entre l'antigène p27 et les anticorps du test [59].

Les tests sur larmes ou salive se heurtent à de nombreuses difficultés:

La concentration minimale de p27 détectable est atteinte plus tardivement dans les larmes ou la salive que dans la circulation sanguine, et l'excrétion de p27 dans la salive n'intervient d'ailleurs qu'après infection de la moelle osseuse [4, 67, 104].

Le nombre de particules virales contenues dans les échantillons de sécrétions peut être moins important que dans les échantillons de sang, et en dessous du seuil de détection des tests, soit à cause d'une faible concentration en particules virales, soit à cause d'un trop faible volume de sécrétions (le volume de larmes sur une bandelette test de Schirmer est au maximum de 20 µL) [40], et la quantité de salive sur les cotons tiges est très variables, et impossible à standardiser [70]. La concentration en antigènes dans la salive a été évaluée comme égale voir supérieure à celle dans le sérum [40], mais la présence de p27 dans la salive ou les larmes est intermittente [34].

Réaliser les tests sur larmes ou salive expose également à plus d'erreurs techniques que de les réaliser sur le sang [34], par exemple un mauvais

détachement des antigènes présents depuis les supports de prélèvements (coton-tige, bandelettes...), qui limite la liaison entre antigènes p27 et anticorps du test.

Les tests sur salive ou larmes sont à l'origine de nombreux faux-positifs et faux-négatifs.

Les sécrétions de certains chats peuvent contenir des molécules qui interfèrent avec la liaison entre les antigènes recherchés et les anticorps du test; conduisant à des faux-négatifs [27].

Des faux-positifs interviennent fréquemment lors des tests salivaires, du fait de la présence de nombreux débits et micro-organismes dans la salive, par réactions croisées non spécifiques. De même, les prélèvements salivaires sur les supports plastiques peuvent conduire à l'apparition de micro-fissures sur les supports, micro-fissures qui lient les réactifs non-spécifiquement; en l'absence de lavage adéquat, des réactifs ne sont pas correctement éliminés de ces micro-fissures, et conduisent à des changements de couleur du substrat.

Ainsi, les tests sur larmes sont plus spécifiques que les tests sur salive, souvent faux-positifs par réactions croisées [40]. La corrélation entre les résultats des tests ELISA effectués sur les larmes et sur sang est meilleure que celle entre sang et salive (environ 80% de corrélation entre sang et larmes) [112].

L'utilisation de la salive ou de larmes expose donc à l'apparition de résultats très variables, peu fiables, et l'utilisation de sang est préférable pour réaliser les tests [17, 28, 34, 65, 101, 103].

► *PCR*

Les performances de la PCR peuvent être altérées par la mauvaise qualité du prélèvement ou un choix inadéquat: cellules en quantité insuffisante sur les cytobrosses ou lors de cytopénie majeure, prélèvement trop précoce après la contamination, utilisation de désinfectants sur la zone prélevée [9, 10, 50]...

Lorsque le chat a présenté des résultats antérieurs discordants, les prélèvements idéaux pour réaliser une PCR ou une RT-PCR sont la moelle osseuse, des cytoponctions de noeuds lymphatiques ou de tumeurs, plutôt que du sang périphérique [34].

La salive constitue une bonne alternative au sang pour certains auteurs: l'ARN viral a été systématiquement détecté dans la salive de chats virémiques, ce test est sensible et spécifique, et évite des manipulations parfois délicates pour prélever du sang. La PCR sur salive est cependant moins sensible que la détection du provirus dans le sang total par PCR temps-réel [27].

b. Conservation et transport du prélèvement

► *Isolement viral*

Les conditions de transport et de stockage des échantillons peuvent détruire le virus et conduire à des résultats faux-négatifs [37, 55].

Cependant, la quantité de virus présent dans le plasma de chats virémiques

persistants permet un transport par courrier pendant plus de 7 jours dans des conditions normales [56].

► *Immunofluorescence [5]*

Les anticoagulants utilisés dans les tubes à prélèvements (EDTA et héparine) peuvent altérer la fiabilité des résultats des prélèvements soumis à l'IFA: l'EDTA entraîne l'apparition de faux positifs, et l'héparine diminue l'intensité de la fluorescence des cellules infectées, risquant d'entraîner des faux-négatifs.

Certains fixateurs de frottis sont à l'origine de faux positifs par réactions non spécifiques entraînant une fluorescence.

Pour réaliser une IFA, le frottis sanguin sera donc idéalement réalisé sur sang total juste après le prélèvement, sans utiliser d'anticoagulant, et en laissant sécher le frottis à l'air, sans fixer les cellules à l'aide d'un fixateur chimique.

► *ELISA et immunomigration*

Les prélèvements se conservent bien, et ne sont pas altérés par le transport dans des conditions normales. Pour éviter une hémolyse susceptible de gêner l'analyse, il est cependant préférable de séparer le sérum ou le plasma des éléments figurés avant l'envoi au laboratoire, si le test n'est pas réalisé à la clinique sur kits rapides.

► *PCR*

Les envois de sang, cellules oropharyngées, moelle osseuse peuvent se faire par envoi postal, à température ambiante. L'ARN étant cependant moins stable que l'ADN, un envoi rapide est cependant préférable (moins de 48 heures idéalement).

Les organes ou biopsies congelés peuvent être expédiés en respectant la chaîne du froid. La congélation permet d'éviter l'altération des acides nucléiques par autolyse des tissus. Le formol, inhibant l'amplification en chaîne des acides nucléiques est à éviter.

c. Respect du protocole de réalisation du test

► *Immunofluorescence*

La spécificité des IFA dépend en partie des compétences du manipulateur lors de la réalisation du test, et de l'interprétation des résultats [101].

► *ELISA et immunomigration*

Le respect des protocoles des tests fournis par le fabriquant est impératif pour ne pas être à l'origine de faux positifs ou faux négatifs dans les tests ELISA, notamment l'étape de « lavage », qui, si elle n'est pas réalisée consciencieusement,

est à l'origine de faux positifs ou de tests équivoques [41, 101, 104].

Lors d'utilisation de larmes, le sensibilité du test ELISA est améliorée lorsque les bandelettes supports de larmes sont incubées pendant 24 heures avant réalisation du test [40].

► *PCR*

Il est important d'envoyer assez de matériel au laboratoire pour réaliser les analyses, notamment sur les cytobrosses: des quantités insuffisantes de cellules peuvent être dues à un prélèvement trop bref ou pas assez énergique [28].

La contamination du prélèvement est absolument à éviter. Elle peut intervenir à 3 étapes, chez le vétérinaire ou au laboratoire: contamination entre les échantillons jusqu'à l'étape d'amplification, contamination par matériel génétique du laboratoire, ou contamination par des produits d'amplification ou des amorces provenant des précédentes PCR lors de la détection des produits amplifiés

Le prélèvement doit se faire dans des conditions limitant les risques d'introduction d'acides nucléiques exogènes.

Au laboratoire, le prélèvement doit être traité correctement afin d'extraire le matériel génétique et éliminer les inhibiteurs éventuels.

Plusieurs mesures sont prises au laboratoire pour éviter les contaminations à l'origine de faux-positifs. Une « marche en avant » est indispensable dans le laboratoire, avec au minimum 2 pièces séparées pour réaliser les étapes pré- et post-amplification, avec matériel réutilisable dédié et ne passant pas d'une pièce à l'autre, et matériel à usage unique jeté après chaque analyse. Les procédures de désinfection des surfaces et de stérilisation du matériel doivent impérativement être respectées.

L'utilisation d'un témoin négatif pourra détecter une contamination du prélèvement.

L'apparition de faux négatifs est également possible. L'utilisation d'un témoin positif, qui ne donne pas de résultat en cas de dysfonctionnement, ainsi que d'un contrôle d'amplification mettant en évidence la présence d'inhibiteurs permettent de maîtriser le risque de faux négatifs.

d. Qualités intrinsèques du test

► *Immunofluorescence*

La spécificité dépend de la qualité des réactifs utilisés [101].

► *ELISA-Immunomigration*

Pour les tests ELISA, vont influer sur les performances du test la qualité des anticorps spécifiques utilisés pour la capture des antigènes, et la préparation du conjugué anticorps-enzymes [104].

► *PCR*

Les performances intrinsèques de la PCR sont influencées par plusieurs paramètres [9]:

- la technique de traitement des échantillons afin d'éliminer les inhibiteurs et extraire le matériel génétique sans l'altérer
- le choix des réactifs (amorces dont la séquence doit être complémentaire de la séquence cible du virus pour que l'hybridation soit possible)
- le choix de témoins adaptés
- le choix de la technologie: choix de l'utilisation de la PCR simple, ou nécessité de l'utilisation de PCR temps-réel plus sensible ?

Une étude rapporte l'apparition de faux négatifs chez des chats infectés par le FeLV-C. Certaines méthodes étaient basées sur la recherche du provirus du FeLV-A, en partant du principe que tous les chats infectés par les sous-types -B ou -C du FeLV le sont aussi par le FeLV-A, et que donc la mise en évidence du provirus du FeLV-A est suffisante pour détecter l'infection.

Cependant, lorsque le FeLV-A n'est pas circulant, la PCR sera négative, malgré la présence de FeLV-C circulant par exemple [102]. L'utilisation d'une PCR capable de détecter les 3 sous-types du FeLV est donc indispensable.

4. Origines des faux positifs et faux négatifs

Un des problèmes rencontrés lors de la réalisation de tests est l'existence de faux positifs et de faux négatifs, soit liés à l'évolution de la maladie, soit aux particularités techniques de chaque test.

Les faux positifs et faux négatifs posent de réels problèmes: les faux positifs par les séparations d'avec les chats qu'ils peuvent engendrer, les faux négatifs par les risques qu'ils font courir aux chats en contact avec l'individu testé [7].

Les origines de faux positifs ou de faux négatifs lors d'isolement viral, d'immunofluorescence, d'ELISA, d'immunomigration ou de PCR sont résumées dans le tableau 12.

tableau 12

Tableau 12: Origines des faux positifs et faux négatifs lors de la réalisation des tests

	Faux positifs	Faux négatifs
Isolement viral		- destruction du virus lors du transport de l'échantillon [37, 55, 88] - réplication virale incomplète dans certaines affections atypiques [37]
Immuno fluorescence	- échantillon sur tube EDTA, réaction fluorescente non spécifique [5] - utilisation de fixateurs de frottis [5] - frottis trop épais, agrégats de plaquettes ou d'éosinophiles [71] - fluorescence d'arrière plan excessive - manipulateur inexpérimenté	- prélèvement avant l'infection de la moelle osseuse [5, 34, 112] - leucopénie, thrombocytopénie, échantillon pauvre en leucocytes [5, 44, 65, 75] - infection localisée hors de la moelle [41] - échantillon sur tube hépariné, qui diminue la fluorescence [5] - infection latente [44] - erreur de manipulation
ELISA ou IM sur sang	- présence d'anticorps anti-souris dans le sang [5, 37, 65, 69, 85, 101] - étape de «rinçage» insuffisante [41, 51, 101, 104] - utilisation de sang total ou prélèvement hémolysé [34, 65)	- test réalisé avant la 1ère virémie [5] - substance dans le plasma inhibant le test ELISA [59] - kits rapides mal conservés, erreurs de manipulation [97] - infection latente
ELISA ou IM sur larmes ou salive	- réactions croisées non spécifiques [39]	- test trop précoce [4, 70, 104) - quantité d'antigènes insuffisants ou présence intermittente [34, 39, 70] - inhibition de liaison Ag-Ac par molécule contenue dans les sécrétions [28] - infection séquestrée, ne touchant pas les glandes salivaires [70]
PCR	- contaminations croisées [10, 34, 65]	- prélèvement trop précoce - destruction du matériel génétique par manipulations inadéquates [10, 58, 65] - présence d'inhibiteurs [65, 88], par exemple hémoglobine libre - choix du prélèvement inadéquat [10] - cytopénie globale ou sur le prélèvement [28, 50]

C. Interprétation des résultats des tests

Il est tout d'abord à noter que l'immunité maternelle et la vaccination n'interfèrent pas avec les résultats des tests [103].

1. Recherche du virus

► *Interprétation d'un test positif*

Un test positif indique que le virus est en circulation dans l'organisme.

Si l'isolement viral est le seul test positif lorsque réalisé avec une IFA et un ELISA sanguin, on est le plus souvent face à une infection transitoire, et le chat parviendra à éliminer le virus [41].

► *Interprétation d'un test négatif*

Un test négatif indique que le virus n'a pas été détecté dans le sang.

Il s'agit
- soit d'un chat non infecté,
- soit d'un chat à infection localisée, qui ne libère pas de virus dans la circulation sanguine
- soit d'un chat infecté latent

2. Recherche d'antigènes

a. IFA: antigènes intracellulaires

►*Interprétation et conduite à tenir face à un test positif*

Un test IFA positif indique que des leucocytes et/ou des plaquettes infectés sont présents, et donc un infection de la moelle osseuse par le virus; ceci signe une infection persistante le plus souvent [33, 41].

Dans un certain nombre de cas, les tests IFA seront positifs transitoirement: 90 à 97% des chats dont une infection par le FeLV a été mise en évidence par IFA seront virémiques à vie, et 83% vont mourir d'une infection liée au FeLV dans les 3,5 ans. [33, 69, 85]

Les 3 à 9% ou 10% des chats restants vont présenter une virémie transitoire, éliminent donc le virus, et s'immunisent [33, 69, 85].

► *Interprétation et conduite à tenir face à un test négatif*

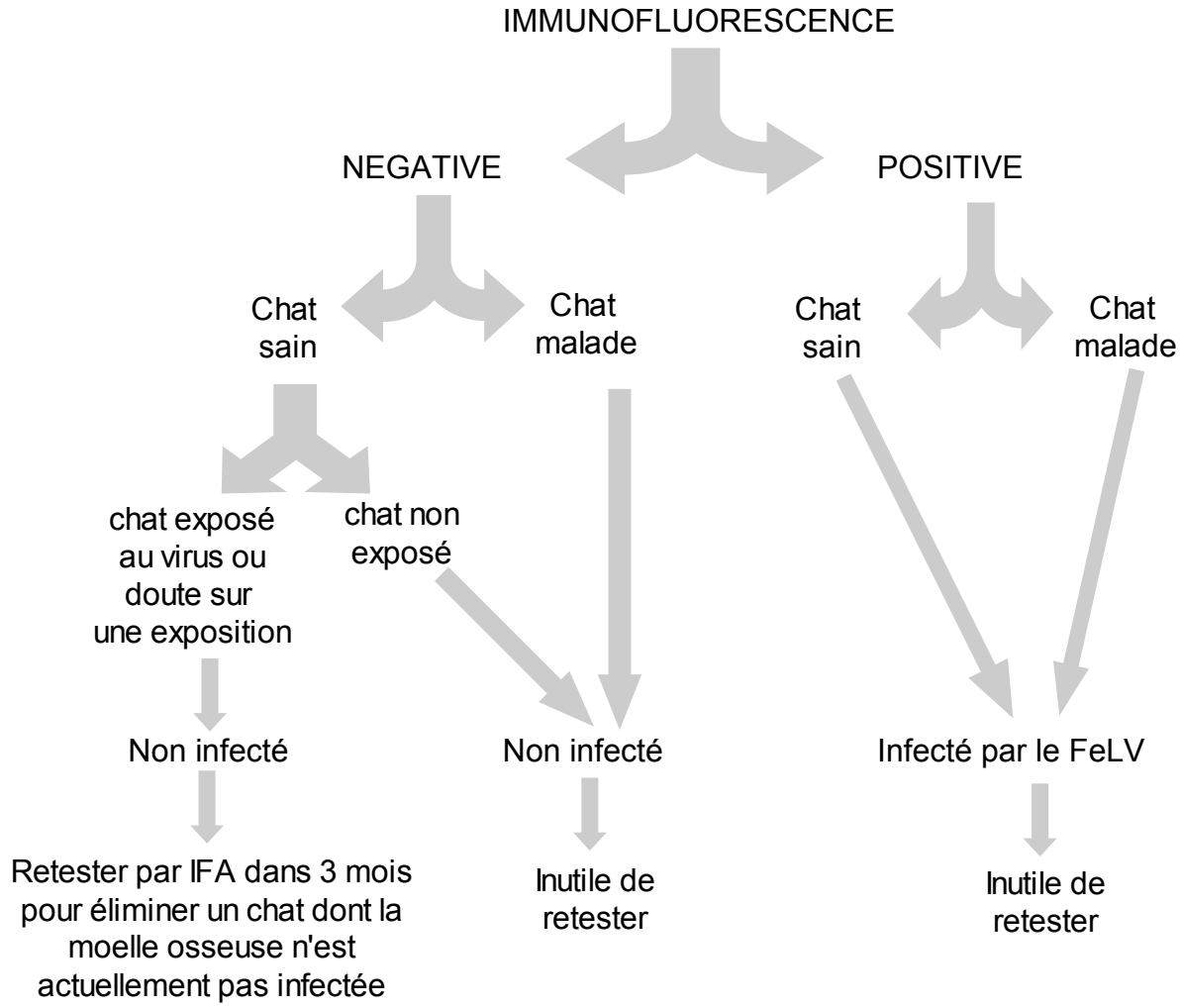
Un test IFA négatif indique qu'il n'y a pas de leucocytes ou de plaquettes circulants contenant l'antigène p27.

Ceci traduit
- soit un chat non infecté
- soit une infection qui n'a pas encore atteint la moelle osseuse
- soit qu'il y a une infection, sans production d'antigènes: infection latente, sans multiplication virale.

► *Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test IFA (d'après [33])*

La conduite à tenir lors de l'obtention d'un résultat de test IFA est indiquée dans la figure 15.

Figure 15: Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test IFA (d'après [33])



La possibilité d'une infection séquestrée doit cependant toujours être retenue, même lorsque l'IFA est négative.

b. Tests ELISA et immunomigration: antigènes circulants

L'interprétation des tests se fera en éliminant les possibilités de faux positifs ou faux négatifs.

► *Interprétation d'un test positif et conduite à tenir*

Les tests ELISA sur sang sont les tests les plus couramment utilisés pour détecter une infection transitoires ou persistantes [44].

Un test ELISA positif sur sang indique (hors faux positifs) que le chat est antigénémique, c'est à dire que des antigènes viraux p27 circulent dans son plasma. L'antigénémie est présente

- lors des infections transitoires
- lors des infections persistantes.

Le test ELISA sur sang ne permet pas de déterminer s'il s'agit d'une infection transitoire ou persistante [5, 34, 35, 69, 75].

Un second test doit donc être réalisé [51]: soit un test IFA immédiatement, soit un second test ELISA dans les semaines suivantes.

Un test IFA réalisé immédiatement, s'il est positif permet d'orienter vers une infection persistante, avec envahissement de la moelle osseuse; le chat doit être considéré comme virémique et infecté à vie, même si dans quelques cas, le chat peut éliminer l'infection [69]. S'il est négatif, il ne permet pas de conclure. Chez certains chats, on obtient des résultats discordants à plusieurs reprises, avec ELISA positifs, mais IFA négatives. Ce cas peut se présenter lorsque le chat a une infection séquestrée, ne touchant pas la moelle osseuse, avec production d'antigènes viraux [85].

Un second test ELISA négatif 12 à 16 semaines plus tard indique soit que le chat présentait une infection transitoire [35], soit que le chat est devenu infecté latent, et qu'il est susceptible de développer une affection liée au FeLV, type lymphosarcome [112].

Un test ELISA positif après ce délai indique par contre un état d'infection permanente. De ce fait, un chat est considéré comme « FeLV positif » si 2 tests réalisés sur 2 échantillons de sérums prélevés à 12 semaines d'intervalle sont positifs [35].

Un chat infecté peut ensuite être retesté tous les 3 à 6 mois, pour contrôler son statut et suivre de près l'infection [57] (possibilité de se négativer, même après infection de la moelle).

Lorsque de la salive ou des larmes sont utilisées pour réaliser un test ELISA, un test positif indique que le chat est excréteur du virus, et de ce fait très probablement virémique, et persistant le plus souvent. Un résultat négatif indique soit un chat non infecté, soit une infection précoce. [75, 85]

► *Interprétation et conduite à tenir face à un test négatif*

Un test ELISA sur sang négatif indique que l'antigène p27 n'est pas présent dans le sang du chat.

Le test négatif peut être interprété de 4 façons (outre les faux négatifs par erreur de manipulation)):
- le chat est indemne
- le test a été réalisé trop précocement après l'infection [5] (avant la 1ère virémie)
- la quantité d'antigènes circulants est trop faible pour être détectable [69]
- le chat est infecté latent [35, 69, 85].

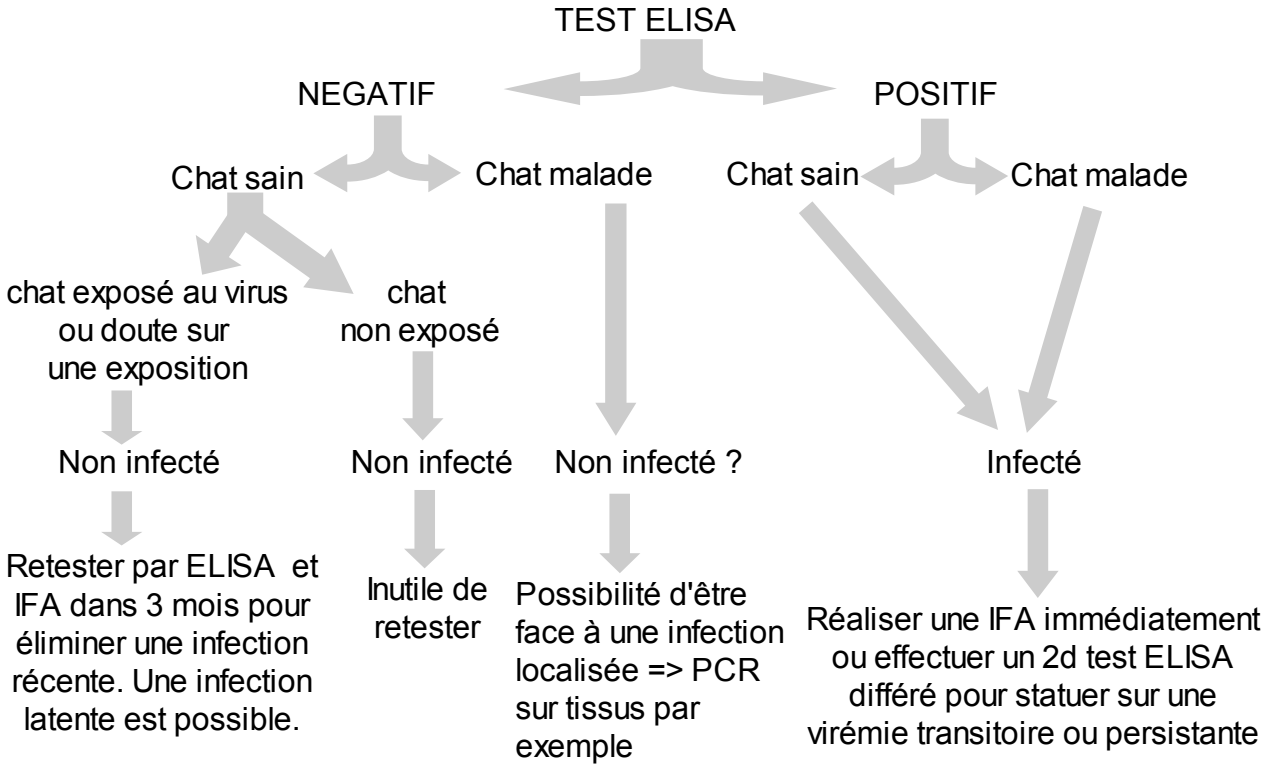
L'hypothèse d'une infection localisée chez des chats présentant des signes cliniques en faveur d'une maladie liée au FeLV mais un test ELISA négatif doit être retenue [59]. Dans ce cas, il n'y a pas de libération d'antigènes viraux dans le sang. De même, un test ELISA négatif n'exclut pas la possibilité de développement d'une tumeur au moment du test ou à l'avenir [85].

Un test ELISA négatif sur larmes ou salive indique que le chat n'est pas excréteur. Ce chat peut cependant être antigénémique, virémique, ou infecté latent [85]

► *Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test ELISA*

La conduite à tenir après obtention des résultats d'un test ELISA, en fonction de l'état de santé du chat, est indiquée dans la figure16 (d'après [33]).

Figure 16: Algorithme décisionnel face aux résultats d'un test ELISA (d'après [33])



3. PCR

►*Interprétation et conduite à tenir face à un test négatif*

Un résultat négatif en PCR et RT-PCR indique soit une charge virale dans l'échantillon inférieure au seuil de détection, soit un chat non infecté.

La PCR temps réel permet de détecter des quantités infimes de matériel génétique. Si le prélèvement a été fait dans de bonnes conditions (choix adéquat du site de prélèvement en cas d'infection séquestrée, ou cellules en quantités suffisantes sur les frottis buccaux par exemple), une charge virale trop faible pour être détectée est peu probable. Le FeLV n'est probablement pas responsable des symptômes.

Une étude rapporte un résultat discordant entre recherche d'ADN proviral et d'ARN viral: chez des chats antigénémiques, la présence d'ADN proviral peut toujours être mise en évidence, alors que la recherche d'ARN viral dans le plasma est parfois négative ! Deux hypothèses sont émises pour expliquer cette discordance: soit un faux négatif, par défaut de sensibilité de la RT-PCR, soit un vrai négatif, dû au statut infectieux du chat, qui peut être en train d'éliminer l'infection [102].

Il convient donc de coupler PCR et RT-PCR (en réalisant une RT-PCR sur sang total par exemple), ou PCR et ELISA, et ne pas réaliser une RT-PCR sur plasma uniquement.

►*Interprétation et conduite à tenir face à un test positif*

Le génome viral a été mis en évidence chez le chat: il est infecté par le FeLV, éventuellement sous forme latente.

L'importance de la charge provirale est liée à l'issue de l'infection: les chats à infection persistante présentent, 4 semaines après l'infection, un pic de provirus bien plus élevé que les chats infectés transitoires [45].

4. Recherche d'anticorps

La détection d'anticorps neutralisants chez un chat indique qu'il a été infecté, qu'il s'est immunisé, et qu'il a une certaine résistance vis à vis de l'infection [60, 111]. Cependant, la quantité d'anticorps baisse au cours du temps en l'absence de ré-exposition au virus ou de vaccination, et peut passer en dessous du seuil de protection [85].

La présence d'anticorps anti-FOCMA traduit une infection antérieure, avec développement de cellules tumorales [60, 111]. Si ces anticorps anti-FOCMA protègent contre l'apparition de tumeurs, elle ne prévient pas l'apparition des autres maladies associées au FeLV [85].

La recherche d'anticorps et leur dosage permet d'indiquer une éventuelle exposition récente au virus et d'évaluer le degré de protection contre l'infection grâce

aux anticorps séroneutralisants, et contre les cellules tumorales grâce aux anticorps anti-FOCMA [20, 60].

L'interprétation des résultats de recherche d'anticorps sériques est reportée dans le tableau 13 (d'après [20]).

Tableau 12: Interprétation des résultats lors de recherche d'anticorps sériques ou de p27 (d'après [20]).

Ag p27 (test ELISA)	Anticorps neutralisants	Anticorps anti-FOCMA	Interprétation	
-	-	-	Non infecté par le FeLV, réceptif à l'infection	
-	+	-	A été infecté, a éliminé le virus, est résistant à une nouvelle infection et à ses conséquences (immunodépression, tumeur)	
-	+	+	A été infecté, a éliminé le virus, est résistant à une nouvelle infection et à ses conséquences. A eu des cellules transformées et possède des anticorps dirigés contre l'antigène FOCMA.	
-	-	+	A été infecté, n'est pas résistant à une nouvelle infection. A eu des cellules transformées et possède des anticorps dirigés contre l'antigène FOCMA. Virus éliminé, ou à l'état quiescent	
+	-	+	Infecté, non résistant au virus (protégé d'une éventuelle évolution tumorale)	Exposé au risque de développement d'une affection non tumorale provoquée par le FeLV
+	-	-	Infecté, non résistant au virus	

D. Avantages et limites de chaque méthode

1. Isolement viral

► *Avantages*

- Test précoce: permet de détecter la virémie 2 à 6 semaines plus tôt que par test ELISA ou immunofluorescence [41]
- Isolement viral possible dans la salive de chats infectés persistants [55]

► *Limites*

- Nécessité d'une prise de sang, parfois difficile sur de très jeunes animaux ou des animaux débilités
- Faux négatifs par réplication virale incomplète dans certaines affections atypiques, malgré une antigénémie [37]
- Faux négatifs par destruction du virus possible lors du stockage et du transport des échantillons [55, 56]
- Peu disponible, réalisable uniquement en laboratoire spécialisé
- Délai de quelques jours avant réception des résultats
- Onéreux

2. Immunofluorescence

► *Avantages*

- Spécifique et sensible
- Permet un contrôle efficace de la diffusion du virus dans les collectivités notamment [32]
- Permet de déterminer la prévalence de l'infection, la contagiosité et la pathogénie du virus, contrôler la propagation du virus et identifier les maladies liées ou induites par l'infection [32]
- Permet souvent un diagnostic de certitude et le contrôle des animaux positifs par les tests immunologiques
- Met en évidence les infections persistantes (infection de la moelle osseuse)
- Antigènes stables à température ambiante et détectables dans les leucocytes même après que le FeLV ait perdu son infectiosité
- Expédition des prélèvements simple
- Rapide (inférieur à 24h)

► *Limites*

- Nécessité d'une prise de sang ou d'un prélèvement de moelle osseuse, parfois difficile sur de très jeunes animaux ou des animaux débilités
- Nécessité d'un frottis de bonne qualité [31], des agrégats de plaquettes ou d'éosinophiles ou des frottis trop épais conduisant à des faux positifs [71]
- Faux négatifs lors de leucopénie sévère
- Faux négatifs avant infection de la moelle: diagnostic plus tardif qu'avec les tests ELISA ou l'immunomigration
- Faux positifs par fluorescence non spécifique des cellules blanches
- Faux positifs ou faux négatifs lors de prélèvements sur anticoagulants ou lors d'utilisation de fixateurs de frottis
- Réalisable uniquement en laboratoire spécialisé
- Nécessite du personnel qualifié et du matériel spécifique
- Onéreux

3. ELISA et immunomigration

► *Avantages*

- Spécifique et sensible
- Résultats non influencés par une cytopénie [41]
- Détectent l'infection quelques semaines plus tôt que l'immunofluorescence [65]
- Réalisable immédiatement en consultation par utilisation de tests rapides, résultats obtenus en 15 minutes
- Expédition des prélèvements simple
- Coût modéré (de l'ordre de 20 à 30 €)

► *Limites*

- Moins spécifique que l'immunofluorescence, peut compliquer la gestion des effectifs à cause de l'apparition de quelques faux-positifs [33]
- Nécessité d'une prise de sang pour l'immunomigration ou l'ELISA sanguins, parfois difficile sur les animaux très jeunes animaux ou débilités
- Tests sur salive ou larmes peu fiables, nombreux faux positifs ou faux négatifs

4. PCR ou RT-PCR

► *Avantages*

- Extrêmement spécifique et sensible, notamment lors de PCR temps-réel
- Test précoce [9]
- Permet souvent un diagnostic de certitude et le contrôle des animaux positifs par les tests immunologiques
- Permet la mise en évidence d'infections latentes [34, 112] localisées, tumorales [44]
- Suivi de la charge virale et/ou provirale sanguine
- Applicable sur sang, tissus, organes congelés... [9, 14, 65]
- Expédition des prélèvements simple [9]
- Réalisable en routine
- Rapide (réception des résultats en 24 à 48h pour le laboratoire Scanelis) [9]
- Coût modéré (de l'ordre de 40€)

► *Limites*

- Faux positifs par contamination des prélèvements [9, 65]
- Faux négatifs par présence d'inhibiteurs, faible quantité de matériel génétique, destruction du matériel génétique, choix inadéquat du prélèvement [9, 65]
- Faux négatifs par mutations dans le FeLV peuvent empêcher la liaison avec les amorces [34]
- Réalisable uniquement en laboratoire spécialisé [34, 65]

Cette seconde partie a exposé l'ensemble des tests utilisables pour dépister ou diagnostiquer l'infection par le FeLV, et notamment ceux utilisables en pratique quotidienne par le praticien (tests rapides ELISA ou immunomigration, PCR, immunofluorescence).

Les performances, avantages et limites de chacun des tests ont été détaillées, et ce notamment en fonction du stade ou de l'issue de l'infection, faisant apparaître l'importance de la connaissance de la pathogénie dans le choix du test et l'interprétation des résultats. Lors de l'obtention des résultats des tests, le praticien devra également prendre en compte l'existence de faux négatifs et de faux positifs, qu'il peut minorer notamment par un choix adapté du test, le respect des protocoles des tests.

Aucun test n'apparaît donc comme « parfait »; le praticien aura à choisir le test le plus adapté en fonction notamment du stade de l'infection suspectée et du type d'infection (localisée ou suspicion de circulation sanguine de matériel génétique ou d'antigènes).

La troisième partie de cette thèse va donc s'attacher à proposer au praticien des conduites à tenir dans le choix des tests dans les toutes les situations dans lesquelles il pourrait se trouver, que ce soit pour dépister ou pour diagnostiquer l'infection.

TROISIEME PARTIE:

DEPISTAGE, DIAGNOSTIC ET CONDUITE A TENIR EN PRATIQUE QUOTIDIENNE

A. Tests disponibles en pratique quotidienne

Nous avons vu précédemment les caractéristiques des tests permettant de dépister ou de diagnostiquer l'infection par le FeLV. Cependant, tous ces tests ne sont pas disponibles en pratique quotidienne. Cette partie s'attachera à présenter les tests utilisables aisément par le vétérinaire.

Il faut distinguer les tests réalisables à la clinique, et ceux réalisables uniquement en laboratoire spécialisé.

1. Tests réalisables à la clinique

Les tests réalisables à la clinique, « au chevet du malade », sont également appelés « tests rapides »: ils permettent de détecter les chats antigénémiques en une quinzaine de minutes, à partir d'une simple prise de sang, et à un coût raisonnable [8].

Ce sont les tests les plus couramment utilisés par le vétérinaire.

Ils présentent de bonnes performances intrinsèques, notamment une excellente spécificité, mais une sensibilité légèrement inférieure aux techniques de référence (isolement viral) [8].

Trois sont actuellement disponibles en France. Deux d'entre eux sont basés sur l'immunomigration, et le troisième est un test ELISA. Tous se réalisent sur sang, sérum ou plasma.

a. Tests rapides basés sur l'immunomigration

Witness FeLV®, Synbiotics (et Witness FIV/FeLV®, Synbiotics)

Ce test est basé sur l'immunomigration. La conservation de la plaquette réactive se fait entre 2 et 25°C. La lecture du test est faite 10 minutes après le dépôt de l'échantillon.

L'échantillon à tester est en contact avec des particules d'or colloïdales sensibilisées. Si l'échantillon contient les antigènes p27 du FeLV, il y aura liaison entre ces antigènes et les particules d'or colloïdales sensibilisées, et migration le long de la plaque. Une zone réactive capture le complexe, et une bande rose apparaît. Une bande de contrôle permet de vérifier la validité du test.

Le protocole de réalisation de ce test est disponible en annexe 1

Speed FeLV® BVT (et Speed FIV/FeLV® BVT)

Ce test est également basé sur l'immunomigration. La plaquette doit être conservée à température ambiante. La lecture du test est faite 10 à 15 minutes après le dépôt de l'échantillon.

L'annexe 2 donne le protocole de réalisation de ce test.

b. Tests ELISA

Snap FeLV® Idexx (et Snap Combo + FIV/FeLV® Idexx)

Ce test est basé sur la technique ELISA. Une attention particulière doit être portée à la conservation du test: contenant des molécules biologiquement actives, ce test doit être conservé entre 2 et 8°C.

La schématisation du protocole de réalisation du test Snap Combo + FIV/FeLV® (qui est identique à celle du test Snap FeLV®) est disponible en annexe 3)

L'échantillon à tester est mélangé à une solution contenant des conjugués enzyme-anticorps anti p27 (étapes 1-2-3 du protocole de réalisation du test Snap Combo + FIV/FeLV®). Si l'échantillon contient des antigènes p27, il y a formation de complexes enzyme-anticorps anti p27-antigènes p27. Le mélange est déposé dans le puit à prélèvement, et l'ensemble migre sur la plaque. Des anticorps anti-FeLV fixés à la plaque sous forme de spot dans la fenêtre de lecture vont capturer les complexes précédemment formés. Les enzymes de ces complexes seront donc concentrés sur le spot. A l'issue de la migration, une pression sur l' « activateur » libère le substrat de l'enzyme, et le tampon de lavage qui élimine les complexes non fixés (étape 4 du protocole de réalisation du test, annexe 3). Les enzymes vont réagir avec le substrat à l'endroit où ils sont fixés, et le faire changer de couleur: il y aura apparition d'une coloration bleue à l'endroit du spot. La lecture du test se fait en 10 minutes (étape 5).

2. Tests réalisables en laboratoire

Les tests détectant les chats antigénémiques sont également réalisables en laboratoire, à défaut de tests rapides à la clinique.

Des laboratoires spécialisés sont capables de réaliser une immunofluorescence ou une PCR pour mettre en évidence une infection par le FeLV

La PCR est une technique très précoce, extrêmement sensible et spécifique, utilisable à tous les stades de la maladie [8].

B. Dépistage de l'infection par le FeLV

1. Indications et candidats au dépistage

De très nombreuses situations doivent conduire à déterminer si le chat est ou pas infecté par le FeLV: avant introduction dans un effectif déjà constitué, avant la saillie, avant la vaccination, avant une exposition, en cas de don de sang, après une exposition à un chat potentiellement infecté...

a. Pourquoi dépister l'infection par le FeLV ?

Savoir qu'un chat est infecté, même s'il est asymptomatique, permet de répondre à 3 objectifs: le protéger, protéger ses congénères, ne pas le vacciner inutilement.

En effet, un chat infecté est susceptible de présenter dans les années suivant l'infection des maladies liées au virus. Savoir que le chat est infecté permet de faciliter le diagnostic, de préciser le pronostic et d'adapter le traitement.

Les chats infectés asymptomatique peuvent être excréteurs, et donc présenter un risque pour les autres chats non infectés en contact. Un chat peut également être amené à être donneur de sang par exemple: connaître son statut vis à vis du FeLV permet de l'écarter du don de sang s'il est infecté.

En élevage ou collectivité, il est indispensable d'assainir l'effectif en isolant ou retirant de l'effectif les chats infectés.

Avant de vacciner un chat contre le FeLV, il est important de vérifier qu'il n'est pas déjà infecté: diagnostiquer une infection par le FeLV chez un chat vacciné, alors même qu'il a été infecté avant la vaccination, peut apparaître comme un échec vaccinal pour le propriétaire.

L'information au propriétaire concernant la possibilité et l'importance de détecter l'infection par le FeLV doit être faite quel que soit l'âge du chat.

b. Quand dépister ? [66]

► *Avant une adoption*

Lorsque le foyer dans lequel va être introduit le chat comprend déjà d'autres individus, il est important de ne pas les exposer à un chat infecté, potentiellement excréteur, mais asymptomatique.

Lorsque le foyer ne comporte pas d'autre chat, ce peut être le cas dans les années suivantes, et les futurs adoptés ne doivent pas être exposés à un chat infecté; d'autre part, ce chat peut s'échapper et exposer d'autres chats au virus

Dépister le chat lors de son arrivée dans le nouveau foyer permet; s'il est infecté, de prendre très rapidement les mesures adéquates afin de protéger les autres individus, et de le traiter efficacement.

► *Suite à l'exposition à un risque infectieux*

Suite à un contact potentiellement infectieux, le chat doit être testé au moins 28 jours après le contact infectieux. Si ce test n'est pas réalisé, les propriétaires doivent être informés du danger que représente un chat potentiellement infecté pour les autres chats du foyer.

► *Contrôles réguliers des chats vaccinés exposés*

Lorsque le chat, même vacciné contre le FeLV ou adulte (plus résistant à l'infection), est exposé à d'autres chats de statut inconnu (chats rencontrés à l'extérieur par exemple), il est justifié de le tester régulièrement.

► *Avant de vacciner contre le FeLV*

Un chat infecté ne doit pas être vacciné contre le FeLV. La vaccination n'a aucun intérêt, et peut avoir des effets secondaires (non spécifiques du vaccin contre le FeLV: hypersensibilité, réactions locales...). D'autre part, la découverte de l'infection chez un chat vacciné mais non testé peut apparaître comme un échec vaccinal.

► *Lors des dons de sang (ou autre tissu)*

La possibilité de transmission du FeLV par le sang par exemple a été démontrée. Le chat donneur ne doit donc pas être infecté, afin de ne pas transmettre le FeLV au receveur. De même, un chat ayant été transfusé doit être testé pour vérifier qu'il n'a pas été contaminé lors de la transfusion.

► *Avant une saillie*

Le contact rapproché entre les 2 chats favorise la contamination si l'un d'eux

est excréteur. Étant donné les conséquences de l'infection sur la gestation et le risque de contamination des chatons, il est impératif de tester les reproducteurs avant la saillie.

► *En effectif (élevages, refuges...)*

Des tests très réguliers (tous les 6 mois) de l'ensemble de l'effectif sont indispensables pour éliminer le virus, en détectant les chats ayant réactivé une infection latente.

► *Lorsque le statut du chat est inconnu*

Quand le statut vis à vis du FeLV est inconnu. Les chats infectés peuvent être asymptomatiques pendant des années, et être des sources d'infection pour les autres chats.

2. Tests utilisables en pratique quotidienne pour le dépistage

a. Quel test choisir en première intention ? [66]

Les tests recommandés par l'Association américaine des praticiens félins (American Association of Feline Practitioners) en première intention sont les tests détectant les antigènes libres dans le plasma, tels que l'ELISA ou l'immunomigration.

Ces tests sont à réaliser sur sérum ou plasma plutôt que sur sang [5].pour éviter les faux positifs. L'utilisation de larmes ou de salive n'est pas recommandée, étant donné le grand nombre de tests invalides.

b. Choix raisonné entre tests rapides et RT-PCR

Dans certains cas, le test ELISA n'est pas le meilleur choix pour déterminer le véritable statut du chat, du fait du délai nécessaire avant apparition d'une antigénémie: c'est le cas lorsqu'on doit déterminer le statut d'un chat ayant eu un contact potentiellement infectieux récent par exemple, ou bien lorsqu'on veut introduire un nouvel individu dans une collectivité.

Dans ces 2 cas, la RT-PCR sera plus intéressante à utiliser qu'un test rapide, malgré les inconvénients (délai, coût...).

Ainsi, un chat ayant eu un contact potentiellement infectieux datant de 2 à 8 semaines sera à tester par RT-PCR, et il suffira d'une quarantaine de 2 semaines avec un test par RT-PCR pour les chats amenés à rejoindre une collectivité.

La PCR n'est cependant pas réservée à ces seuls cas: elle peut parfaitement remplacer les tests rapides en première intention.

Le tableau 14 indique les utilisations possibles des tests rapides et de la PCR dans diverses situations en dépistage (d'après [8]).

Tableau 13: Choix entre tests rapides et PCR dans diverses situations de dépistage (d'après [8]).

<table>
<tr><td colspan="2"></td><td>Test rapide</td><td>PCR</td></tr>
<tr><td colspan="2">Reproducteurs</td><td colspan="2">Avant la saillie et 1 à 2 fois par an</td></tr>
<tr><td colspan="2">Chat né de mère infectée</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">Chat nouvellement acquis</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">Introduction d'un nouvel animal dans un élevage sain</td><td>Réaliser 2 tests à 2 mois d'intervalle</td><td>Tester après 15 jours de quarantaine</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Contact avec un animal infecté</td><td>Contact datant de moins de 2 semaines</td><td rowspan="2">Risque de faux négatifs</td><td>Risque de faux négatifs</td></tr>
<tr><td>Contact datant de 2 à 8 semaines</td><td rowspan="2"></td></tr>
<tr><td>Contact datant de plus de 8 semaines</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">Chat présenté à une exposition</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">Dépistage avant vaccination</td><td></td><td></td></tr>
</table>

Technique: recommandée ☐ possible ▒ à éviter ■

3. Conduite à tenir pour dépister efficacement l'infection

a. Réalisations de tests rapides et algorithmes décisionnels

Les tests rapides sont les tests les plus couramment utilisés par le vétérinaire en pratique quotidienne. Il convient de les interpréter correctement, et de connaître la conduite à tenir face aux résultats, notamment pour éliminer les faux positifs, et déterminer en cas de vrai positif s'il s'agit d'une infection transitoire, permanente, latente ou séquestrée.

Les figures 17 et 18 indiquent la conduite à tenir suite à la réalisation d'un test rapide (figure 17), et suite à l'obtention d'un résultat positif sur test rapide dans un contexte d'infection possible (figure 18).

Figure 17: Conduite à tenir suite à un résultat de test rapide (d'après [33])

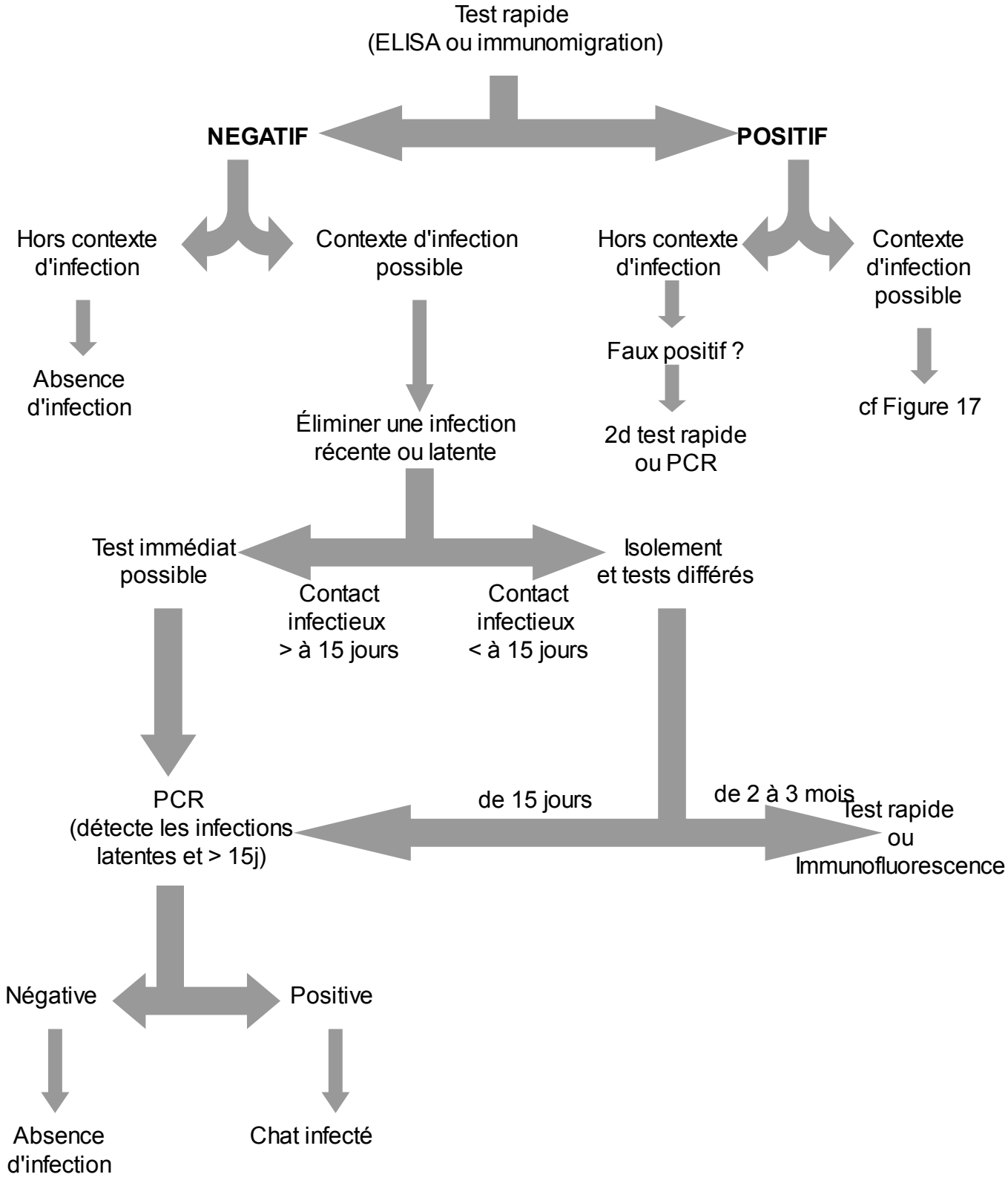
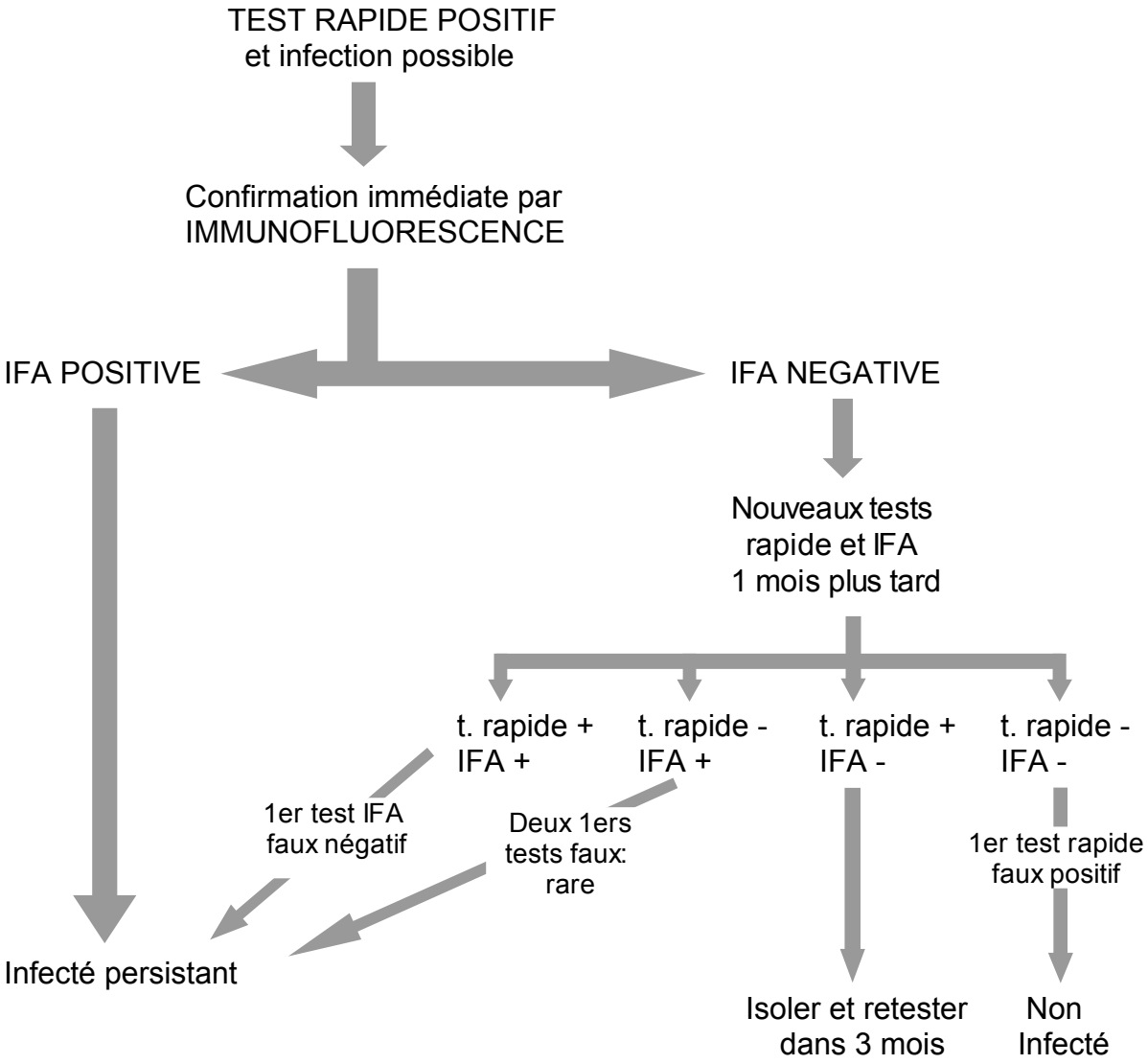


Figure 18: Conduite à tenir suite à un test rapide positif dans un contexte d'infection possible (d'après [33])



b. Interprétation de tests successifs

Lorsque le praticien a réalisé plusieurs tests, il peut se trouver dans une situation où les résultats des tests sont discordants. Le tableau 9 a donné des interprétations possibles suite à l'obtention de résultats discordants.

c. Protocoles de dépistage et d'assainissement en effectifs [58, 66, 77, 78]

L'assainissement d'un effectif nécessite plusieurs mois, et des tests répétés. Pendant toute la période d'assainissement, il convient de ne pas introduire de nouvel individu.

La première étape consiste à rechercher l'infection chez tous les chats de l'effectif. Le test ELISA peut être choisi comme premier test, du fait de sa facilité de mise en oeuvre sur de grands effectifs, et les résultats ELISA positifs seront idéalement confirmés par immunofluorescence. Les chats infectés sont retirés de l'effectif, et les locaux désinfectés.

Trois mois plus tard, un second test est réalisé sur tous les chats négatifs au test initial, pour identifier des chats possiblement en incubations lors du test initial (0,3% de positifs en plus lors du second test) [77], et les chats positifs sont retirés de l'effectif.

Ces tests tous les 3 mois se succèdent, avec retrait des chats positifs, jusqu'à ce que tous les chats donnent 2 tests négatifs à 3 mois d'intervalle. L'effectif est alors considéré comme sain.

Concernant les chats positifs, ils sont soumis également aux tests tous les 3 mois. Idéalement, ces chats testés positifs ne doivent pas vivre sous le même toit que les chats testés négatifs, du fait de la difficulté à respecter un isolement strict. Un chat qui donne 2 résultats négatifs à 3 mois d'intervalle peut être réintroduit dans l'effectif sain.

Une alternative aux tests ELISA ± IFA est la PCR, qui permet en plus de détecter les animaux infectés latents de l'effectif. La mise en oeuvre est relativement aisée, mais le coût est légèrement plus élevé.

C. Diagnostic de l'infection par le FeLV

Si l'infection par le FeLV est peu répandue dans une population saine, elle l'est beaucoup plus chez les chats présentant des signes cliniques de maladie. D'ailleurs, plus que tout autre agent infectieux, le FeLV est associé à des maladies et à la mort chez le chat, et décime les populations. Le diagnostic de l'infection est indispensable afin de traiter efficacement, et prévenir la contamination des congénères.

Il est donc important de savoir quand suspecter une infection par le FeLV, comment la diagnostiquer efficacement, interpréter les résultats des tests.

1. Indications du test face à un chat malade

a. Quand suspecter une infection par le FeLV ?

Le FeLV est à l'origine de nombreuses affections chez le chat: affections tumorales, désordres immunitaires, troubles de la reproduction, affections myélodégénératives, affections neurologiques... L'ensemble de ces affections est rapportée dans le tableau 15 (d'après [17])

Tableau 14: Affections engendrées par le virus leucémogène félin (d'après [17])

Affections directement liées à l'action du FeLV	**Affections indirectement liées à l'action du FeLV (désordres immunitaires)**
Troubles de la reproduction - Infertilité - Résorption foetale - Avortement - Mortinatalité	**Immunodépression** - Rhinotrachéite virale chronique - Hémobartonellose - Mycoses: cryptococcose - Affections à protozoaires: toxoplasmose - Infections bactériennes aiguës ou chroniques: gingivo-stomatites...
Affections myélodégénératives - Anémies - Thrombopénies - Leucopénies	
Affections neurologiques - Anisocories - Incontinence urinaire - Parésie postérieure	
Affections tumorales - Tumeurs lymphoïdes Lymphomes malins Leucémies lymphoïdes - Désordres myéloprolifératifs Leucémies non lymphoïdes et autres désordres myéloprolifératifs - Fibrosarcomes (FeSV)	**Maladies à médiation immunue / Dysimmunités** - Anémies hémolytiques - Glomérulopathies - Uvéites - Polyarthrite progressive féline

Certains signes sont particulièrement évocateurs d'infection par le FeLV: anémie, néoplasies, désordres liés à des dysfonctionnements immunitaires.

Lors de lymphosarcomes, le praticien se trouvera face à un lymphosarcome FeLV induit dans, selon le type de lymphosarcome, 25 à 90% des cas, comme indiqué dans le tableau 16.

Tableau 15: Pourcentage de chats infectés parmi les chats souffrant de certains lymphosarcomes (d'après [13, 35, 78, 103])

Formes de lymphosarcomes	Fréquence d'infection par le FeLV
Thymique	80 à 90%
Multicentrique	60 à 80%
Digestif	25 à 30%
Leucémie lymphoïde	60%

Étant donné la fréquence de l'infection chez les chats présentant les affections sus-citées, il faudra déterminer si les chats présentés avec ces symptômes, ou avec des affections chroniques mal expliquées, sont infectés ou pas.

b. Pourquoi diagnostiquer l'infection ?

Diagnostiquer l'infection par le FeLV permettra de donner un pronostic plus précis au propriétaire, adapter les traitements, et protéger le chat et les congénères.

2. Tests utilisables

Tout comme lors du dépistage, le praticien aura à faire un choix en pratique quotidienne entre test rapide et RT-PCR. Le tableau 17 oriente ce choix:

Tableau 16: Choix des tests rapides ou de la RT-PCR dans diverses situations de diagnostic (d'après [8])

	Test rapide	RT- PCR
- Maladies chroniques et récidivantes - Pathologies dégénératives (anémie...) - Syndrome d'immunodépression accompagné ou non d'infections intercurrentes - Problèmes de reproduction		
- Pathologies tumorales - Stomatites isolées	Risque de faux négatifs	

Technique: recommandée ☐ à éviter ☐

3. Interprétation des tests rapides

A l'issue de la réalisation d'un test rapide à la clinique en vue de déterminer si le chat symptomatique est infecté par le FeLV ou pas, le praticien devra dans certains cas renouveler le test.

La conduite à tenir lors d'un test diagnostic est indiquée dans le tableau 18.

Tableau 17: Interprétation des résultats d'un test rapide et conduite à tenir dans une situation de diagnostic. (d'après [8])

Résultat du test rapide	Interprétation	Conduite à tenir
Positif	Forte probabilité d'infection par le FeLV	- Renouveler le test 12 semaines plus tard car la guérison est possible (virémie transitoire) - Si le 2d test est positif, l'infection est probablement définitive
Négatif	Si infection localisée (pathologie tumorale, stomatite...)	Rechercher le FeLV par PCR
	Dans les autres cas: chat non infecté	Diagnostic terminé

D. Conduite à tenir face à un chat infecté par le FeLV

1. Prise en charge du chat infecté asymptomatique [19, 58]

Lorsqu'un chat est déclaré infecté lors de protocoles de dépistage, la première chose à faire est d'évoquer le pronostic avec le propriétaire; un chat infecté asymptomatique peut vivre pendant plusieurs années, et avec une bonne qualité de vie, grâce aux efforts combinés du propriétaire et du vétérinaire. L'euthanasie n'est donc dans la grande majorité des cas pas à envisager sur un chat infecté asymptomatique (la gestion d'un effectif, que ce soit élevage ou refuge, y pousse parfois, pour protéger le reste de l'effectif).

a. Mesures à prendre à domicile

Des mesures d'hygiène doivent être prises pour limiter l'exposition du chat FeLV positif à des agents infectieux, le chat infecté y étant plus sensible du fait de la possible immunosuppression FeLV induite.

Ceci passe par:

- une suppression des sorties, qui exposent le chat à de nouvelles souches microbiennes
- la distribution d'une alimentation industrielle de bonne qualité limitant le risque de transmission de parasitoses et d'apparition d'infections opportunistes
- la vaccination contre la panleucopénie, l'herpèsvirus félin de type 1, le calicivirus, et éventuellement contre la rage et la chlamydiose, grâce à des vaccins inactivés
- des traitements antiparasitaires réguliers: à la fois antiparasitaires externes (prévention de la transmission de d'hémobartonellose notamment), et antiparasitaires internes

Tous les facteurs de stress doivent être évités au chat: densité de l'effectif trop élevée, introduction de nouveaux individus, changement de lieu de vie, hospitalisation, chirurgie, stress lié à la reproduction (la stérilisation est conseillée)...

Le propriétaire doit également être incité à surveiller très régulièrement le poids de leur chat, la perte de poids étant souvent le 1er signe de dégradation de l'état général. Toute perte de poids doit donc motiver une consultation très rapidement, ainsi que tout signe de maladie bien entendu.

b. Contrôles vétérinaires

Outre les consultations motivées par une perte de poids ou des signes cliniques inquiétant le propriétaires, des consultations semestrielles de contrôle sont conseillées.

Au cours de ces consultations semestrielles, seront réalisés:

- un examen clinique avec une attention particulière portée à la bouche, les noeuds lymphatiques, les yeux, la peau
- un contrôle du poids
- une numération formule sanguine
- un bilan biochimique
- une analyse d'urines (annuelle)
- une coproscopie (parfois conseillée tous les 3 mois [58]

En cas de détection d'anomalie, le chat doit être considéré comme « chat infecté symptomatique », que les symptômes soient ou pas liés au FeLV.

c. Traitements prophylactiques

L'utilisation préventive d'antibiotiques n'est pas souhaitable: ils entraînent une modification de la flore intestinale, l'apparition de résistances bactériennes et le développement d'une flore fongique indésirable.

2. Prise en charge du chat infecté symptomatique

Outre les mesures d'hygiène détaillées ci-dessus, également applicables aux chats infectés symptomatiques, ceux-ci devront faire l'objet de soins spécifiques.

a. Détermination du lien entre symptômes et infection par le FeLV

Deux cas sont à envisager:

- celui du chat qui a été dépisté FeLV positif, et présente une affection à distance du test de dépistage
- celui du chat présentant des symptômes motivant un test FeLV, et pour lequel le test confirme que le chat est bien infecté par le FeLV, et que les symptômes observés sont très probablement liés au FeLV.

Dans le premier cas, et tout particulièrement lorsque les symptômes sont frustres (hyperthermie isolée par exemple), la difficulté pour le vétérinaire va être de déterminer si les symptômes observés sont liés à l'infection par le FeLV, ou en sont indépendants. Dans le cas de l'hyperthermie précédemment évoquée, il peut s'agir par exemple d'une hyperthermie liée à un abcès sur morsure, aisément traitable, ou d'une infection secondaire à une neutropénie, plus inquiétante, et probablement liée à l'action du FeLV.

Lorsqu'il est établi que l'affection est liée au FeLV, des traitements particuliers devront être mis en oeuvre.

b. Traitement des affections liées au FeLV

Chimiothérapies, transfusions, antiviraux, immunomodulateurs sont couramment utilisés pour traiter spécifiquement les affections liées au FeLV. L'ensemble de ces traitements est détaillé dans la Partie 1, sous-partie F.

Lors d'infection, les protocoles de traitement devront fréquemment être plus « agressifs » chez les chats FeLV positifs symptomatiques que chez les chats FeLV négatifs. Les stomatites, les abcès, les pyothorax, la toxoplasmose, d'hémobartonellose sont particulièrement rencontrées chez les chats FeLV positifs,et le traitement antibiotique devra être entrepris très précocement et poursuivi généralement plus longtemps qu'habituellement pour ces affections.

3. Mesures de protection des congénères [58]

Le chat infecté persistant est excréteur de virus, et donc source d'infection pour ses congénères. Idéalement, ce chat doit être isolé des autres chats.

Hors contexte d'élevage dans lequel il est impératif d'avoir une politique d'isolement des chats infectés, les propriétaires peuvent choisir de laisser le chat

infecté permanent avec les autres chats. Dans ce cas, le propriétaire doit être informé des risques encourus par les chats actuellement non infectés.

Les adultes non infectés ont acquis une certaine immunité, mais conservent un risque d'infection de 10 à 15%. Les chatons de moins de 4 mois sont les plus sensibles, et il est souhaitable de les séparer du chat infecté.

La vaccination contre le FeLV des chats en contact est souhaitable, bien qu'elle ne protège que partiellement les chats soumis à une forte pression d'infection.

4. Aspect légal: cession d'un chat infecté par le FeLV

L'infection par le FeLV étant un vice rédhibitoire, le vétérinaire suspectant ou diagnostiquant une infection par le FeLV dans les 15 jours suivant la vente doit rédiger un certificat de suspicion.

L'ensemble de ces éléments est disponible dans la Partie 1, Sous partie G.

Cette troisième partie permet tout d'abord au praticien de cibler les chats à tester, en dépistage ou en diagnostic, puis de faire le choix du test le mieux adapté dans des situations de dépistage ou de diagnostic rencontrées en pratique quotidienne.

Les tests proposés donnent les résultats les plus fiables actuellement lors des situations exposées.

Ils sont facilement accessibles au praticien, que ce soit les tests rapides disponibles à la clinique, ou la PCR en laboratoire spécialisé. Les résultats sont en outre obtenus rapidement: soit immédiatement lors de tests rapides, soit en quelques jours de la réalisation d'une PCR.

Dans quelques cas, le résultat doit être interprété selon le contexte épidémiologique et clinique, et le test éventuellement réitéré. Des algorithmes décisionnels aident à l'interprétation et indiquent la conduite à tenir

Ainsi, le praticien dispose des données actuelles en matière de dépistage et de diagnostic, aisément utilisables en pratique quotidienne.

CONCLUSION

Cette étude montre à quel point les situations de dépistage et de diagnostic de l'infection par le FeLV doivent être envisagées au cas par cas dans le choix du test à utiliser afin d'obtenir les résultats les plus fiables possibles, reflétant réellement le statut du chat.

Elle souligne l'intérêt, mais également les limites des tests rapides, trop souvent seuls tests utilisés pour dépister ou diagnostiquer l'infection. Le praticien sera ainsi parfois face à des cas cliniques sur lesquels d'autres tests seront à réaliser, sur d'autres supports biologiques que le sang parfois.

En dépistant toujours plus efficacement l'infection, et en prenant les mesures de protection des congénères nécessaires, on peut sans doute s'attendre à des diminutions de prévalence dans les années à venir, comme cela a été le cas ces 20 dernières années.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARJONA A, ESCOLAR E, SOTO I, BARQUERO N, MARTIN D, GOMEZ-LUCIA E. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. *J. Clin. Microbiol*., 2000, **38**(9), 3448-3449.

2. ARJONA A, BARQUERO N, DOMENECH A, TEJERIZO G, COLLADO VM, TOURAL C, MARTIN D, GOMEZ-LUCIA E. Evaluation of a novel nested PCR for the routine diagnosis of feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV). *J. Feline Med. Surg*., 2007, **9**(1), 14-22.

3. AUGUST JR. Feline Infectious Disease part I. Feline Leukemia virus: Epizootiology and control. *Compendium on continuing education for the praticing veterinary*, 1986, **7**, 49-52.

4. BABYAK SD, GROVES MG, DIMSKI DS, TABOADA J. Evaluation of a saliva test kit for feline leukemia virus antigen. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc*., 1996, **32**(5), 397-400.

5. BARR MC. FIV, FeLV, and FIPV: interpretation and misinterpretation of serological test results. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.),* 1996, **11**(3), 144-153.

6. BERRY BT, GHOSH AK, KUMAR DV, SPODICK DA, ROY-BURMAN P. Structure and function of endogenous Feline Leukemia Virus long terminal repeats and adjoining regions. *J. Virol.*, 1988, **62**, 3631-3641.

7. BILLES T. *Contribution à l'étude du dépistage des rétroviroses félines en collectivités. Mise en place d'un protocole à la Société Protectrice des Animaux de S^{t} Malo*. Thèse Méd. Vét., Nantes, 2003, n°33, 115p.

8. BOUCRAULT-BARALON C. Diagnostic de laboratoire des rétroviroses félines. *Nouveau Prat. Vét.*, Hors-série 2000, 45-47.

9. BOUCRAUT-BARALON C. Diagnostic moléculaire - Les techniques PCR et la recherche d'agents pathogènes, *Nouveau Prat. Vét*., Novembre-Décembre-Janvier 2001, 63-66.

10. BOUCRAUT-BARALON C. La PCR ou amplification génique. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp*., 2002, **37**, 303-304.

11. BOUCRAUT-BARALON C. L'apport des techniques de biologie dans le

diagnostic des maladies infectieuses. *Nouveau Prat. Vét.*, Hors série 2006, 94-99.

12. BRALEY J. FeLV and FIV: Survey shows prevalence in the United States and Europe. *Feline Practice*, 1994, **22**, 25-28.

13. CANEY S. Feline Leukaemia Virus: an update. *In Practice*, 2000, **22**(7), 397-401.

14. CARMICHAEL KP, BIENZLE D, McDONNELL JJ. Feline leukemia virus-associated myelopathy in cats. *Vet. Pathol.*, 2002, **39**(5), 536-545.

15. CASEY JW, ROACH A, MULLINS JI, BURCK KB, NICOLSON MO, GARDNER MB *et al*. The U3 portion of feline leukemia virus DNA identifies horizontally acquired proviruses in leukemic cats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1981, **78**(12), 7778-7782.

16. CATTORI V, TANDON R, PEPIN A, LUTZ H, HOFMANN-LEHMANN R. Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into genomic DNA. *Mol. Cell. Probes*, 2006, **20**(3-4), 172-181.

17. CHABANNE L, CHAPPUIS-GAGNON AC. Comment et quand effectuer le dépistage des rétroviroses félines. *Nouveau Prat. Vét.,* Hors série 2006, 108-110.

18. CHABANNE L, ARAGON-JONGH A, PONCE F. Le chat FeLV positif en phase symptômatique. *Point Vét.*, 2003, supplément(236), 8-11.

19. COTTER SM, GILMORE CE, ROLLINS C. Multiple cases of feline leukemia and feline infectious peritonitis in a household. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1973, **162**(12), 1054–1058.

20. CRESPEAU F, POUCHELON J-L. L'infection du chat par le virus leucémogène félin (FeLV). *Rec. Méd. Vét.,* 1982, **158**(9-11), 741-754.

21. DAY NK, O'REILLY-FELICE C, HARDY WD JR, GOOD RA, WITKIN SS. Circulating immune complexes associated with naturally occurring lymphosarcoma in pet cats. *J. Immunol*., 1980, **125**(6), 2363-2366.

22. ENGELMAN RW, TYLER RD, TRANG LQ, LIU WT, GOOD RA, DAY NK. Clinicopathologic responses in cats with feline leukemia virus-associated leukemia-lymphoma treated with staphylococcal protein A. *Am. J. Pathol*., 1985, **118**(3), 367-378.

23. FAVROT C, WILHELM S, GREST P, MELI ML, HOFMANN-LEHMANN R, KIPAR A. Two cases of FeLV-associated dermatoses. *Vet. Dermatol*., 2005, **16**(6), 407-412.

24. FENNER FJ, GIBBS EPJ, MURPHY FA *et al*. Retroviridae. *In: Veterinary virology*. 2d edition. San Diego: Academic Press, 1993, 561-594.

25. FORD RB. Feline Leukaemia Virus (FeLV), history, disease, and prevention. [en ligne] www.purevax.us.merial.com/media/feline_leukemia.pdf (consulté le 02 septembre 2007).

26. GANIERE JP. Les différents types de vaccins et modalités vaccinales. *In: Actualités sur la vaccination du chat,* Maisons-Alfort, 25 mars 2006, Maisons-Alfort: Société Française de Félinotechnie, 2006, 121-136.

27. GOMES-KELLER MA, TANDON R, GONCZI E, MELI ML, HOFMANN-LEHMANN R, LUTZ H. Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. *Vet. Microbiol*., 2006, **112**(1), 11-21.

28. GOMES-KELLER MA, GONCZI E, TANDON R, RIONDATO F, HOFMANN-LEHMANN R, MELI ML *et al*. Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *J. Clin. Microbiol*., 2006, **44**(3), 916-922.

29. GRAIN F, VIALARD J. Comment utiliser la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) chez le chien et le chat. *Nouv. Prat. Vét.*, Hors-série 2004, 123-125.

30. GUIOT AL, POULET H. Les rétroviroses. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp*., 1999, **34**, 299-308.

31. HAMEL-FLAUS V. *Contribution à l'étude de l'infection par le virus leucémogène félin: évaluation des facteurs conditionnant la sensibilité des chats*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1993, n°30, 91p.

32. HARDY WD Jr, ZUCKERMAN EE. Development of the immunofluorescent antibody test for detection of feline leukemia virus infection in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1327-1335.

33. HARDY WD Jr, ZUCKERMAN EE. Ten-year study comparing enzyme-linked immunosorbent assay with the immunofluorescent antibody test for detection of feline leukemia virus infection in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1365-1373.

34. HARTMANN K. Feline Leukemia Virus Infection. *In:* GREENE CE, *Infectious diseases of the dog and cat*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Compagny, 2006, 105-131.

35. HARTMAN K, KRAFT W. FeLV infection. *Rev. Méd. Vét.,* 1994, **145**(3), 191-197.

36. HARTMANN K, DONATH A, BEER B, EGBERINK HF, HORZINEK MC, LUTZ H *et al.* Use of two virustatica (AZT, PMEA) in the treatment of FIV and of FeLV seropositive cats with clinical symptoms. *Vet. Immunol. Immunopathol*., 1992, **35**(1-2), 167-175.

37. HARTMANN K, WERNER RM, EGBERINK H, JARRETT O. Comparison of six

in-house tests for the rapid diagnosis of feline immunodeficiency and feline leukaemia virus infections. *Vet. Rec*., 2001, **149(**11), 317-320.

38. HARTMANN K, GRIESSMAYR P, SCHULZ B, GREENE CE, VIDYASHANKAR AN, JARRETT O *et al*. Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *J. Feline Med. Surg.,* 2007, **9**(6), 439-445.

39. HAWKINS EC. Saliva and tear tests for feline leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1382-1385.

40. HAWKINS EC JOHNSON L PEDERSEN NC WINSTON S. Use of tears for diagnosis of feline leukemia virus infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1986, **188**(9), 1031-1034.

41. HAWKS DM, LEGENDRE AM, ROHRBACH BW. Comparison of four test kits for feline leukemia virus antigen. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1373-1377.

42. HAYES KA, ROJKO JL, MATHES LE. Incidence of localized feline leukemia virus infection in cats. 1992, *Am. J. Vet. Res*., **53**(4), 604-607.

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

44. HERRING ES, TROY GC, TOTH TE, FORRESTER SD, WEIGT LA, HERRING IP. Detection of feline leukaemia virus in blood and bone marrow of cats with varying suspicion of latent infection. *J. Feline Med. Surg.,* 2001, **3**(3), 133-141.

45. HOFMANN-LEHMANN R, HUDER JB, GRUBER S, BORETTI F, SIGRIST B, LUTZ H. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *J. Gen. Virol.*, 2001, 82, 1589-1596.

46. HOFMANN-LEHMANN R TANDON R BORETTI FS MELI ML WILLI B CATTORI V *et al.* Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. *Vaccine*, 2006, **24**(8), 1087-1094.

47. HOFMANN-LEHMANN R CATTORI V TANDON R BORETTI FS MELI ML RIOND B et al, Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine,* 2007, **25**(30), 5531-5539.

48. HOSIE MJ, ROBERTSON C, JARRETT O. Prevalence of feline leukaemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. *Vet. Rec*., 1989, **125**(11), 293-297.

49. JACKSON ML, HAINES DM, MERIC SM, MISRA V. Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. *Can. J. Vet. Res*., 1993, **57**(4), 269-276.

50. JACKSON ML, HAINES DM, TAYLOR SM, MISRA V. Feline leukemia virus detection by ELISA and PCR in peripheral blood from 68 cats with high, moderate, or low suspicion of having FeLV-related disease. *J. Vet. Diagn. Invest*., 1996, **8**(1), 25-30.

51. JACOBSON RH. How well do serodiagnostic tests predict the infection or disease status of cats? *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1343-1347.

52. JACOBSON RH, LOPEZ NA. Comparative study of diagnostic testing for feline leukemia virus infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1389-1391.

53. JARRETT O. La vaccination contre la Leucose, quelles indications. *In: Actualités sur la vaccination du chat,* Maisons-Alfort, 25 mars 2006, Maisons-Alfort: Société Française de Félinotechnie, 2006, 121-136.

54. JARRETT O, HARDY WD JR, GOLDER MC, HAY D. The frequency of occurrence of feline leukaemia virus subgroups in cats. *Int. J. Cancer,* 1978, **21**(3), 334-337.

55. JARRETT O, GOLDER MC, STEWART MF. Detection of transient and persistent feline leukaemia virus infections. *Vet. Rec*., 1982, **110**(10), 225-228.

56. JARRETT O, GOLDER MC, WEIJER K. A comparison of three methods of feline leukaemia virus diagnosis. *Vet. Rec*., 1982, **110**(14), 325-328.

57. JARRETT O, PACITTI AM, HOSIE MJ, REID G. Comparison of diagnostic methods for feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1362-1364.

58. JONGH-ARAGON A, CHABANNE L. Conduite à tenir face à un chat FeLV positif. *Point Vét.,* 2003, **34**(239), 40-43.

59. KERR MG, SMITH KJ. Detection of FeLV antigen by indirect immunofluorescence in ELISA/CITE negative cats. *Vet. Rec*., 1995; **136**(20), 516-518.

60. KIEHL AR, MACY DW. Feline leukemia virus: testing and prophylaxis. *Comp. Cont. Ed.*, 1985, **7**(12), 1038-1043.

61. KIPAR A, KREMENDAHL J, GRANT CK, VON BOTHMER I, REINACHER M. Expression of viral proteins in feline leukemia virus-associated enteritis. *Vet. Pathol*., 2000, **37**(2), 129-136.

62. LANE SB, KORNEGAY JN, DUNCAN JR, OLIVER JF Jr. Feline spinal lymphosarcoma: a retrospective evaluation of 23 cats. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, **8**(2), 99-104.

63. LAPPIN MR. Opportunistic infections associated with retroviral infections in cats. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*. 1995, **10**(4), 244-250.

64. LEFRANC T. Conduite à tenir devant une uvéite chez le chat. *Point Vét.*, 2003, **34**(241), 40-45.

65. LEVY JK. FeLV and non-neoplastic FeLV related disease. *In:* ETTINGER SJ, FELDMANN EC, editors. *Textbook of veterinary internal medicine*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000, 424-432.

66. LEVY J, RICHARDS J, EDWARDS D, ELSTON T, HARTMANN K, RODAN I *et al.* American Association of Feline Practitioners; Academy of Feline Medicine Advisory Panel. 2001 Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel on feline retrovirus testing and management. *J. Feline Med. Surg*., 2003, **5**(1), 3-10.

67. LEWIS MG, WRIGHT KA, LAFRADO LJ, SHANKER PJ, PALUMBO NE, LEMOINE ED, OLSEN RG. Saliva as a source of feline leukemia virus antigen for diagnosis of disease. *J. Clin. Microbiol.,* 1987, **25**(7), 1320–1322.

68. LOAR AS. Feline leukemia virus. Immunization and prevention. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract*., 1993, **23**(1), 193-211.

69. LOPEZ NA, JACOBSON RH, SCARLETT JM, CENTER SA, RANDOLPH JF, SCOTT FW. Sensitivity and specificity of blood test kits for feline leukemia virus antigen. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1989, **195**(6), 747-751.

70. LUTZ H, JARRETT O. Detection of feline leukemia virus infection in saliva. *J. Clin. Microbiol*., 1987, **25**(5), 827-831.

71. MACCHI S. *Contribution à l'étude du diagnostic et du dépistage de l'infection par les rétrovirus félins: comparaison de 3 techniques rapides.* Thèse Méd. Vét., Nantes, 1997, n°70, 115p.

72. MADEWELL BR, JARRETT O. Recovery of feline leukaemia virus from non-viraemic cats. *Vet. Rec*., 1983, **112**(15), 339-342.

73. MAHAMADALY K. *Enquête sur la motivation de la vaccination contre la leucose féline chez les propriétaires de chats*. Thèse Méd. Vét., Lyon, 2002, n°47, 136p.

74. MALAVALLON-CARLIER A. *Essai de thérapie vaccinale chez des chats porteurs chroniques asymptomatiques du virus de la leucose féline.* Thèse Méd. Vét., Lyon, 2007, n°32, 136p.

75. MC CAW D. Diagnosis of retroviral diseases in cats. *Feline Pract.*, 1994, **22**(2), 19-21.

76. MEDAILLE C, CHABRE-CLOET B. Principales affections hématologiques. *Prat. Med. Chir. Anim. Comp*., 1999, **34**, 321-328.

77. MORAILLON A. Infection du chat par le virus leucémogène félin (FeLV). *Point*

Vét., 1986, **18**(101), 575-586.

78. MORAILLON A., Le chat et le virus leucémogène (FeLV). *Point Vét*, 1988, **20**, 279-295.

79. MORAILLON A, MORAILLON R. Tests de détection de l'infection du chat par le virus leucémogène. *Point Vét.*, 1984, **16**(82), 323-329.

80. MORAILLON R, LEGEAY Y, BOUSSARIE D. *Dictionnaire pratique de thérapeutique Chien, Chat et NAC*, 6ème éd. Issy les Moulineaux: Masson, 2007, 917p.

81. MURPHY FA, GIBBS EPJ, HORZINEK MC, STUDDERT MJ. Laboratory Diagnosis of Viral Diseases *In: Veterinary Virology*, 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1999, 193-233.

82. MURPHY FA, GIBBS EPJ, HORZINEK MC, STUDDERT MJ. Retroviridae, *In: Veterinary Virology*, 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1999, 363-381.

83. PACITTI AM, JARRETT O. Duration of the latent state in feline leukaemia virus infections. *Vet. Rec.*, 1985, **117**(18), 472-474.

84. PACITTI AM, JARRETT O, HAY D. Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. *Vet. Rec.*, 1986, **118**(14), 381-384.

85. PARRY BW, HOLLOWAY SA, STUDDERT MJ. Diagnosis of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infections. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1989, **19**(4), 719-727.

86. PEDERSEN NC, MERIC SM, HO E, JOHNSON L, PLUCKER BS, THEILEN GH. The clinical significance of latent feline leukemia virus infection in cats. *Feline Pract.,* 1984, **14**(2), 32-48.

87. PELLERIN JL. Dépistage immuno-enzymatique de l'infection par le FeLV: attention aux faux-positifs ! *Point Vét.*, 1991, **22**(133), 751-755.

88. PINCHES MD, HELPS CR, GRUFFYDD-JONES TJ, EGAN K, JARRETT O, TASKER S. Diagnosis of feline leukaemia virus infection by semi-quantitative real-time polymerase chain reaction. *J. Feline Med. Surg.*, 2007, **9**(1), 8-13.

89. PINCHES MD, DIESEL G, HELPS CR, TASKER S, EGAN K, GRUFFYDD-JONES TJ. An update on FIV and FeLV test performance using a Bayesian statistical approach. *Vet. Clin. Pathol.*, 2007, **36**(2), 141-147.

90. POULET H. Eurifel® FeLV, vaccin à vecteur viral vivant non réplicatif (canarypoxvirus). *In:* Rétroviroses, Nouvelles données, Nouvelles technologies vaccinales, Cahier du Vetomecum Merial, Novembre 2001, 47-51

91. QUIERZY P. *Etiopathogénie des dermatoses viro-induites dans l'espèce féline.* Thèse Méd. Vét., Alfort, 2007, n° 24, 148p.

92. RAMSEY IK, SPIBEY N, JARRETT O. The receptor binding site of feline leukemia virus surface glycoprotein is distinct from the site involved in virus neutralization. *J. Virol*., 1998, **72**(4), 3268-3277.

93. ROBINSON A, DECANN K, AITKEN E, GRUFFYDD-JONES TJ, SPARKES AH, WERRET G, HARBOUR DA. Comparison of a rapid immunomigration test and ELISA for FIV antibody and FeLV antigen testing in cats. *Vet. Rec*., 1998, **142**(18), 491-492.

94. ROJKO JL, KOCIBA GJ. Pathogenesis of infection by the feline leukemia virus, *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1305-1310.

95. ROJKO JL, HOOVER EA, MATHES LE, OLSEN RG, SCHALLER JP. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. *J. Natl. Cancer Inst*., 1979, **63**(3), 759-768.

96. ROJKO JL, HOOVER EA, QUACKENBUSH SL, OLSEN RG. Reactivation of latent feline leukaemia virus infection. *Nature,* 1982, **298**(5872), 385-388.

97. SABOUDY F. *Diagnostic par PCR des rétroviroses félines.* Thèse Méd. Vét., Toulouse, 2001, n°110, 99p.

98. SOMA T, ISHII H. 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.,* 2004, **66**(1), 89-90.

99. SPARKES AH. Feline leukaemia virus: a review of immunity and vaccination. *J. Small Anim. Pract*., 1997, **38**(5), 187-194.

100. STILES J, BIENZLE D, RENDER JA, BUYUKMIHCI NC, JOHNSON EC. Use of nested polymerase chain reaction (PCR) for detection of retroviruses from formalin-fixed, paraffin-embedded uveal melanomas in cats. *Vet. Ophthalmol*., 1999, **2**(2), 113-116.

101. SWANGO LJ. Evaluation of feline leukemia virus diagnostic tests available for in-office use by veterinarians. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10),1386-1389.

102. TANDON R, CATTORI V, GOMES-KELLER MA, MELI ML, GOLDER MC, LUTZ H *et al.* Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods,* 2005, **130**(1-2), 124-132.

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

104. TONELLI QJ. Enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *J. Am. Vet. Med.*

Assoc., 1991 ;**199**(10), 1336-1339.

105. TORRES AN, MATHIASON CK, HOOVER EA. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology,* 2005, **332**(1), 272-283.

106. VAN REGENMORTEL MHV, FAUQUET CM, BISHOP DHL *et al.* Family retroviridae. *In*: *Virus taxonomy,* San Diego: Academic Press, 2000, 369-387.

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

108. VIALARD J, GRAIN F. La sérologie: utilisation chez le chien et le chat. *Nouveau Prat. Vét.*, Hors-série 2004, 117-121.

109. WEISS RC, CUMMINS JM, RICHARDS AB. Low-dose orally administered alpha interferon treatment for feline leukemia virus infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 1991, **199**(10), 1477-1481.

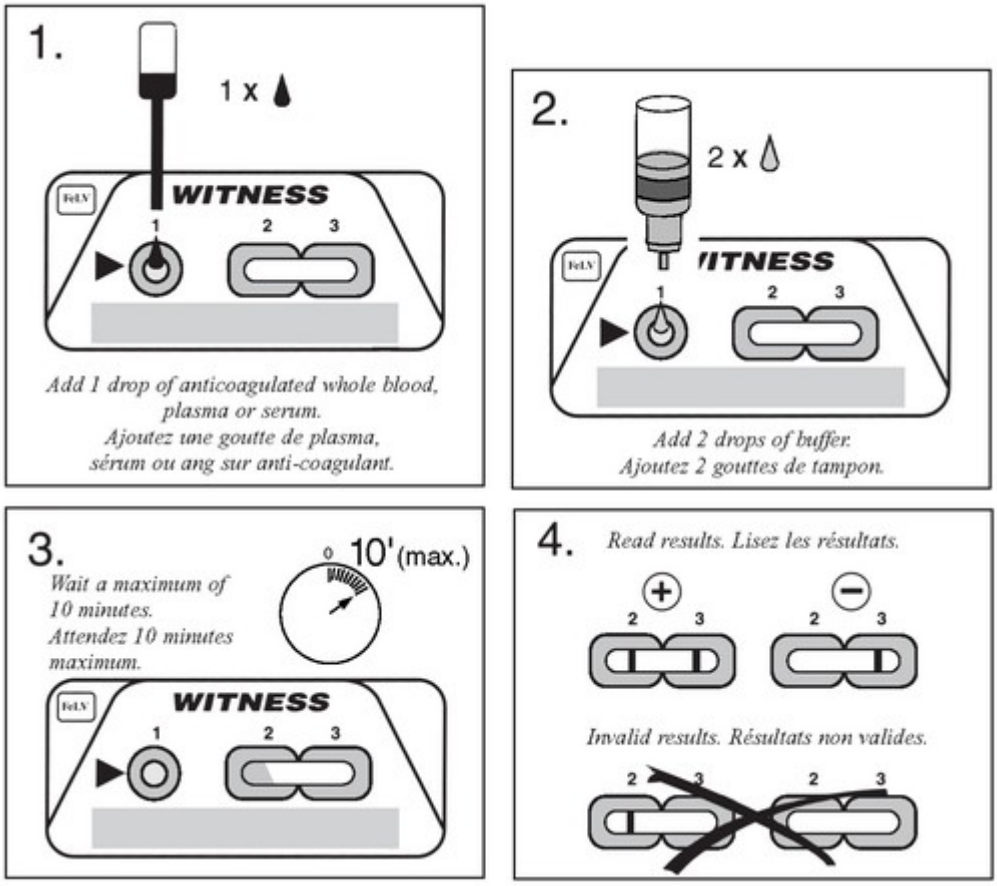
110. WILLIS AM. Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.,* 2000, **30**(5), 971-986.

111. WYERS M, PARODI AL. Rôle pathogène chez le chat du virus leucémogène félin. *Rec. Méd. Vét.,* 1977, **153**(7-8), 457-471.

112. ZENGER E. FIP, FeLV, FIV: making a diagnosis. *Feline Pract*., 2000, **28**, 16-18.

ANNEXES

Annexe 1: Protocole de réalisation du test Witness FeLV



Annexe 2: Réalisation du test Speed FeLV®

Réalisation de ®Speed FeLV & ®Speed Duo FeLV/FIV

▶ **Matériel nécessaire pour un test :**

Une cellule test
Une pipette à usage unique
Un flacon RÉACTIF

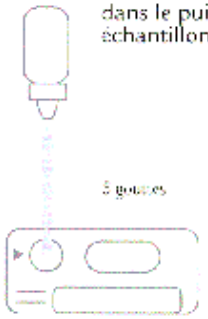
1 Prélèvement

- *Type de prélèvement*
  Sang total avec ou sans anticoagulant, plasma, sérum.
- *Conservation des échantillons*
  Sérum, plasma:
  A température ambiante : 24h ; entre 2 et 8°C : 48h à 7 jours ; à -20°C : plusieurs mois.
  Sang total :
  A température ambiante : 24h ; entre 2 et 8°C : maximum 72h.

2 Manipulation

- 1- A l'aide de la pipette, déposer **une goutte** de l'échantillon dans le puits échantillon. Lors de l'utilisation de sang total sans anticoagulant, déposer **2 gouttes** d'échantillon directement avec l'aiguille de prélèvement.

- Déposer **5 gouttes** de RÉACTIF dans le puits échantillon.



3 Lecture

- Délai de lecture : après **15 minutes** de migration
  Le résultat apparaît dans la fenêtre de lecture

Test Négatif : une seule bande rose apparaît dans la partie droite de la fenêtre de lecture

Test Positif : deux bandes roses apparaissent dans la fenêtre de lecture

L'absence de bande de contrôle dans la fenêtre de lecture au terme du délai de migration rend le test invalide.

4 Interprétation

- Un **résultat positif associé à des signes cliniques évocateurs** rendent très probable l'infection par le FeLV. Du fait de **l'existence de virémies transitoires** rendant la guérison possible (30% des cas), il convient de **toujours réaliser un second test 12 semaines plus tard**.
- **Lorsque un contact avec l'agent infectieux** est suspecté, réaliser un **test au moins 28 jours après** l'exposition potentielle.
- La **vaccination n'interfère pas avec le résultat** du test.
- **En zone de faible prévalence** et sans signe clinique évocateur, une **confirmation d'un résultat positif** est à envisager par une seconde analyse. Par contre, la valeur prédictive d'un résultat négatif dans ce cas est excellente.
- **Un animal positif FeLV a plus de risque de développer une PIF.** Un test sérologique vis-à-vis de coronavirus félin est alors à envisager pour déterminer s'il est porteur (3).

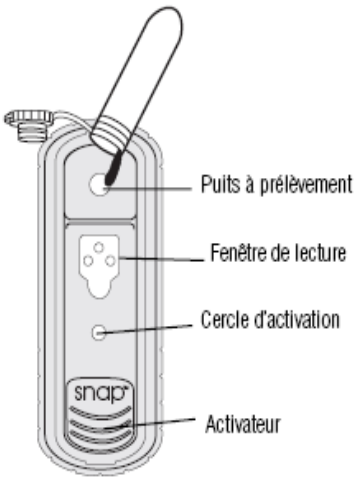
Annexe 3: Réalisation du test Snap Combo Plus FIV/FeLV

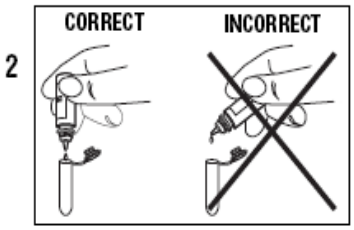
IDEXX LABORATORIES

SNAP® Combo Plus FIV/FeLV

Procédure de test

1. À l'aide de la pipette fournie, verser **3 gouttes de prélèvement** (sang total, sérum, ou plasma) dans le tube de prélèvement (bouchon bleu).
2. Tenir le flacon à la verticale et ajouter **4 gouttes de conjugué** au tube de prélèvement (bouchon bleu).
3. Reboucher le tube de prélèvement et mélanger soigneusement par retournements 3 à 5 fois.



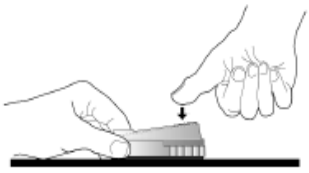


4. Placer le dispositif sur une surface plane. Ajouter la totalité du contenu du tube de prélèvement au puits à prélèvement en veillant à ne pas répandre le contenu hors du puits.

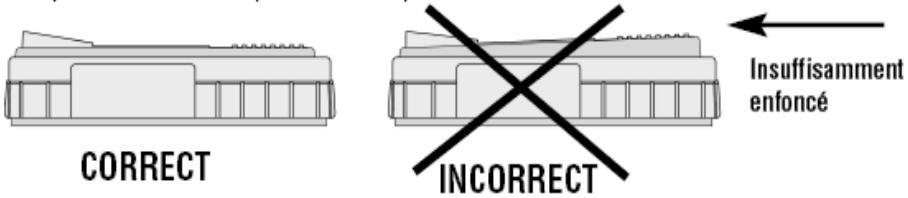
   Le prélèvement va s'écouler sur la fenêtre de lecture, atteignant le cercle d'activation en 30 - 60 secondes environ. Une partie du prélèvement peut rester dans le puits à prélèvement.

   Vérifier attentivement l'apparition du prélèvement ou d'une couleur bleue dans le cercle d'activation.

- **DÈS QUE la couleur apparaît dans le cercle d'activation, appuyer fermement sur l'activateur jusqu'à ce qu'il soit à niveau avec le corps du dispositif.**
  Remarque : certains prélèvements peuvent ne pas s'écouler vers le cercle d'activation dans les 60 secondes, auquel cas le cercle ne change pas de couleur. Si cela se produit, appuyer sur l'activateur une fois que le prélèvement a traversé la fenêtre de lecture.



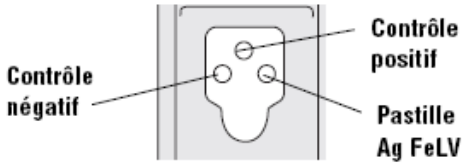
- Maintenir le dispositif à l'horizontale pour assurer la précision des résultats.



5. Attendre **10 minutes** avant d'interpréter le résultat.
   REMARQUE: le contrôle positif peut changer de couleur plus tôt, mais les résultats ne sont définitifs qu'après 10 minutes.

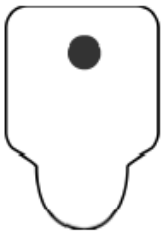
Interprétation du test

Pour interpréter le test, observer les pastilles réactives dans la fenêtre de lecture. La variation de couleur de la pastille du prélèvement est proportionnelle à la concentration d'antigène FeLV dans le prélèvement. Si aucune couleur n'apparaît dans le contrôle positif, refaire le test.



Résultat negatif

Seule la pastille de contrôle positif change de couleur.



Résultat positif

La pastille de contrôle positif et la pastille Ag FeLV changent de couleur.

Réaction avec le contrôle négatif

La pastille de contrôle négatif sert à éviter les résultats faussement positifs et permet de s'assurer que le dosage a été correctement effectué.

Résultat positif

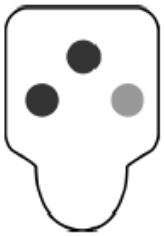
1.

Si la couleur de la pastille du prélèvement est plus sombre que celle de la pastille du contrôle négatif, le résultat est positif.

Résultat non valide

2.

Si la couleur de la pastille du contrôle négatif est similaire ou plus sombre que la pastille du prélèvement, le test n'est pas valide.



Résultats non valides

1. **Fond**
   Si le prélèvement a dépassé le cercle d'activation, une couleur de fond peut apparaître. Ceci est normal dans une certaine mesure. Néanmoins, si la couleur de fond empêche de lire le test, il faut refaire le test.

2. **Absence de couleur**
   Si aucune couleur n'apparaît dans le contrôle positif, refaire le test.