



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 16209

To cite this version :

Espinasse, Fanny. *Détermination des critères d'efficacité des vaccins contre la leucose féline*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 92 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

DÉTERMINATION DES CRITÈRES D'EFFICACITÉ DES VACCINS CONTRE LA LEUCOSE FÉLINE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

ESPINASSE Fanny
Née, le 21 Novembre 1991 à AUCH (32)

Directeur de thèse : Mme Séverine BOULLIER

JURY

PRESIDENT :
M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Séverine BOULLIER
M. Stéphane BERTAGNOLI

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 04/07/2016

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

ELEVAGE ET PRODUITS/SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE	SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES	SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS
<p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme TROEGELER-MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>MALADIES REGLEMENTEES-ZOONOSES- MEDECINE PREVENTIVE DES CARNIVORES DOMESTIQUES-DROIT VETERINAIRE :</u> M. PICAVET Dominique, PR</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIERE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, MC M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> M. MARTINEAU Guy, PR Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMELIORATION GENETIQUE ECONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, MC Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Hélène, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE. :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. REGNIER Alain, PR M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, MC</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE. :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme PRADIER Sophie, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>

REMERCIEMENTS

Au président de thèse,

A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Virologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements et mes hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

A Madame le Professeur Séverine BOULLIER

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Immunologie générale et médicale

Qui nous a proposé ce sujet de thèse et guidé tout au long de sa réalisation,
Qu'elle soit remerciée pour son attention et la patience dont elle fait preuve.

A Monsieur le Professeur Stéphane BERTAGNOLI

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie infectieuse

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse,
Qu'il soit remercié pour sa gentillesse et le soutien qu'il apporte dans son enseignement.

SOMMAIRE

Introduction	11
1 Leucose féline et vaccination	13
1.1 Présentation du Virus Leucémogène Félin (FeLV).....	13
1.1.1 Caractéristiques du virus	13
1.1.1.1 Morphologie.....	13
1.1.1.1 Structure génétique	14
1.1.1.2 Réplication.....	15
1.1.2 Epidémiologie	17
1.1.2.1 Populations infectées	17
1.1.2.2 Transmission.....	18
1.1.3 Evolution du virus dans l'organisme.....	20
1.1.3.1 Réplication locale	22
1.1.3.2 Virémie transitoire	22
1.1.3.1 Extension aux autres tissus lymphoïdes	22
1.1.3.2 Atteinte de la moelle osseuse et de l'épithélium intestinal.....	24
1.1.3.3 Etablissement de la virémie persistante	24
1.1.3.4 Colonisation des épithéliums muqueux et excrétion du virus	25
1.1.4 Réponse immunitaire au FeLV.....	26
1.1.4.1 Réponse immunitaire à médiation humorale	27
1.1.4.2 Réponse immunitaire à médiation cellulaire	30
1.1.4.3 Action immunosuppressive du virus.....	33
1.1.4.4 Protection vaccinale.....	35
1.1.5 Particularités de la physiopathologie de l'infection.....	37
1.1.5.1 Maladies associées à l'infection persistante	37
1.1.5.2 Diversité des souches.....	40
1.1.5.3 Variabilité de réponse en fonction de l'âge	42
1.2 Vaccins contre la leucose disponibles en 2015.....	43
1.2.1 Offre vaccinale en France	44
1.2.1.1 Inactivés	44
1.2.1.2 Recombinants.....	45
1.2.2 Protocoles vaccinaux : recommandations.....	46
2 Evaluation de l'efficacité des vaccins Leucose	48
2.1 Définition de l'efficacité vaccinale	48
2.2 Comparaison des études d'efficacité pour les vaccins actuels.....	50
2.2.1 Animaux étudiés	52
2.2.1.1 Nombre	52
2.2.1.2 Origine des animaux	54
2.2.1.3 Age des animaux.....	54

2.2.2	Modalités de l'épreuve virulente.....	55
2.2.2.1	Mode d'inoculation.....	55
2.2.2.2	Immunosuppression.....	56
2.2.2.3	Souche utilisée.....	57
2.2.3	Paramètres évalués pour mettre en évidence l'infection.....	57
2.2.3.1	Echantillons prélevés.....	57
2.2.3.2	Méthodes de détection du virus et de la réponse immunitaire.....	59
2.2.4	Résultats obtenus.....	63
2.2.4.1	Effet du vaccin sur la virémie persistante.....	63
2.2.4.2	Effet du vaccin sur la virémie transitoire.....	65
2.2.4.3	Réponse immunitaire à médiation humorale.....	66
2.2.4.4	Données de la biologie moléculaire.....	66
2.2.4.5	Détection d'une infection latente.....	67
2.3	Paramètres influençant l'évaluation de la réponse vaccinale.....	68
2.3.1	Durée des études et âge des animaux étudiés.....	68
2.3.2	Infections intercurrentes.....	68
2.3.3	Taux de FeLV endogène chez les animaux.....	69
2.3.4	Fréquence d'échantillonnage.....	70
2.3.5	Conditions de l'épreuve virulente.....	70
2.3.5.1	Variant utilisé.....	70
2.3.5.2	Voie d'inoculation.....	71
2.3.5.3	Immunosuppression.....	71
3	Discussion : détermination des critères d'efficacité pour les vaccins Leucose.....	73
3.1	Variabilité de l'efficacité constatée en fonction des études.....	73
3.2	Pertinence des critères d'efficacité utilisés.....	74
3.2.1	Critères ne permettant pas l'évaluation de l'efficacité vaccinale.....	74
3.2.1.1	Détection d'une virémie transitoire.....	74
3.2.1.2	Observation de signes cliniques non spécifiques.....	74
3.2.1.3	Infections concomitantes.....	75
3.2.1.4	Présence d'anticorps dirigés contre le FeLV.....	75
3.2.1.5	Anticorps anti-FOCMA.....	75
3.2.2	Critères pertinents à inclure dans les études d'efficacité.....	76
3.2.2.1	Détection de l'antigène p27.....	76
3.2.2.2	Détection du virus infectieux par isolement sur culture cellulaire.....	76
3.2.2.3	Quantification des acides nucléiques du FeLV.....	76
3.2.2.4	Déclenchement d'affections associées au FeLV.....	78
3.2.3	Evaluation de la protection contre l'infection latente.....	78
	Conclusion.....	79

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Constituants principaux du FeLV	14
Figure 2. Représentation du provirus du FeLV	15
Figure 3. Production et libération du virus depuis la cellule infectée	16
Figure 4. Survie du FeLV dans la salive après séchage sur lames de verre à température ambiante (24°C), Francis et al. 1979	19
Figure 5. Issues possibles suite à une infection par le FeLV	23
Figure 6. Evolution de la charge plasmatique en provirus (A) et en ARN viral (B) au cours du temps, d'après R. Hofmann-Lehmann et al. 2008	26
Figure 7. Premières étapes de l'activation du complément (voie classique)	29
Figure 8. Taux d'ARN viral de FeLV (sang total sur EDTA) dans différents sous-groupes de leucocytes chez des chats p27-positifs (A) et p27-négatif (B).	34
Figure 9. Nombre d'animaux inclus dans les études d'efficacité vaccinale,.....	52
Figure 10. Répartition des études d'efficacité vaccinale en fonction de l'âge des animaux, ...	54
Figure 11. Localisations successives du FeLV au cours de l'infection.	58
Figure 12. Principe de l'ELISA dans le diagnostic direct du FeLV	60
Figure 13. Fractions préventives des vaccins Leucose disponibles en France.....	65
Figure 14. Résultats de l'épreuve virulente par le FeLV pour un groupe témoin et deux groupes vaccinés avec Eurifel® et Fel-O-Vax® analysés avec différentes méthodes.....	77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Récapitulatif des modes d'infection par le FeLV (d'après Levy et al. 2008).....	21
Tableau 2. Vaccins FeLV disponibles en France en 2015	43
Tableau 3. Détails des études sur les vaccins FeLV disponibles dans le commerce en Grande-Bretagne, par Sparkes, 1997	50
Tableau 4. Conditions expérimentales comparées des 12 études sur l'efficacité des vaccins FeLV entre 1997 et 2015	51
Tableau 5. Exemples de calculs de signification statistique avec le test de Fisher Exact.....	53
Tableau 6. Résultats des études réalisées sur les vaccins FeLV disponibles dans le commerce en France.....	64

LISTE DES ABBREVIATIONS

ABCD: European Advisory Board on Cat Diseases

AcSN : anticorps séro-neutralisants

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messenger

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CTL : lymphocyte T cytotoxique

ELISA : immunoadsorption à enzyme conjuguée

enFeLV : Virus Leucémogène Félin endogène

EOPS : exempts d'organisme pathogènes spécifiques

FCoV : CoronaVirus Félin endémique

FeLV : Virus Leucémogène Félin

FeSV : Virus de Sarcome Félin

FIV : Virus de l'Immunodéficience Féline

FOCMA : antigène de membrane de l'oncovirus félin

FP : fraction préventive

GALT : tissus lymphoïdes associés au tractus intestinal

IL : interleukine

kDa : poids moléculaire en kiloDaltons

KIR : Récepteur Ig-like des cellules Natural Killer

LTa1 : lymphocytes T auxiliaires 1

LTRs : long terminal repeats

NLP : nœuds lymphatiques périphériques

pb : paire de bases

PCR : Réaction de Polymérase en Chaîne

qPCR : Réaction de Polymérase en Chaîne quantitative

RT-PCR : Réaction de Polymérase en Chaîne associée à une Reverse-Transcriptase

Introduction

En 1964, une équipe de l'université de Glasgow (Jarrett et al. 1964) met en évidence une particule virale associée à l'apparition de lymphosarcome dans une colonie de chats. Ce Virus Leucémogène Félin (FeLV) est retrouvé chez un grand nombre de félidés à travers le monde. Sous sa forme endogène, il est intégré au génome des chats domestiques et sauvages (*Felis chaus*, *Felis margarita*, *Felis sylvestris*). La forme virulente exogène touche les chats du monde entier, mais aussi les Pumas (Cunningham et al. 2008) et les Lynx (Luaces et al. 2008; Meli et al. 2010).

La plupart des chats exposés au FeLV éliminent le virus et développent une immunité solide contre lui, mais chez d'autres individus une infection persistante s'établit. Cette persistance du virus dans l'organisme est associée avec une forte probabilité de développer des troubles de l'hématopoïèse tels que lymphome, leucémie, immunosuppression ou anémie, regroupés sous le nom de leucose féline (Hartmann 2012).

Le contrôle de l'infection par le FeLV repose sur deux stratégies : l'isolement des animaux infectés, qui nécessite des moyens lourds pour assurer un contrôle permanent et des dépistages fréquents (W. D. Hardy et al. 1976) et l'immunoprophylaxie sur les individus sensibles. Dès 1975, le développement de membranes cellulaires porteuses d'antigènes du FeLV permet la stimulation d'une immunité active contre le virus, avec la sécrétion d'anticorps en grande quantité et une résistance accrue à l'infection (Jarrett et al. 1975; Olsen et al. 1976).

Dès lors, en l'absence de traitement efficace contre la maladie, plusieurs vaccins contre la leucose féline ont été développés par les laboratoires vétérinaires. La généralisation de la vaccination a joué un rôle majeur dans le contrôle de la leucose féline. Elle reste toutefois source de controverses, d'une part en raison de la diversité des formulations disponibles, des différences d'efficacités annoncées par les laboratoires, mais aussi car les essais expérimentaux ont démontré qu'aucun vaccin ne confère à ce jour une protection totale contre l'infection. En 2015, l'offre vaccinale en France comprend cinq spécialités de vaccins mono ou multivalents, proposés par trois laboratoires : Virbac®, Zoetis® et Merial®.

L'objectif de cette étude est de regrouper les données actuellement disponibles sur la réponse immunitaire contre le FeLV et l'efficacité des différents vaccins contre la leucose mis à disposition des praticiens et de proposer une réflexion sur les critères d'efficacité pertinents à évaluer en lien avec la physiopathologie du virus.

Dans un premier temps, nous décrirons les aspects théoriques de la vaccination contre la leucose féline, avant d'exposer les différents critères utilisés à ce jour pour évaluer son efficacité.

1 Leucose féline et vaccination

1.1 Présentation du Virus Leucémogène Félin (FeLV)

1.1.1 Caractéristiques du virus

Le FeLV appartient à la famille des *Retroviridae*, genre *Gammaretrovirus*¹. Les rétrovirus sont des virus enveloppés qui se distinguent par un cycle de réplication particulier : ils sont capables de convertir leur acide ribonucléique (ARN) viral simple brin en acide désoxyribonucléique (ADN) double brin, grâce à une enzyme spécifique : la reverse transcriptase, puis d'intégrer ce matériel au génome de la cellule infectée grâce à une intégrase (Murphy et al. 1999). Le FeLV partage ces caractéristiques avec un autre rétrovirus félin majeur : le Virus de l'Immunodéficience Féline (FIV).

1.1.1.1 Morphologie

Le FeLV est constitué d'un noyau (nucléocapside) hexagonal, qui abrite l'ARN viral et la reverse-transcriptase, et d'une enveloppe.

Le noyau est entouré de plusieurs protéines, nommées en fonction de leur poids moléculaires : p10 (10 kDa) est une protéine de la nucléocapside, p12 (12 kDa) n'a pas de fonction connue, p15c (15 kDa) constitue la matrice et p27 (27 kDa) est utilisée pour le dépistage du virus par immunofluorescence ou par méthode immuno-enzymatique.

L'élément majeur de l'enveloppe est la glycoprotéine gp70 (70 kDa). Elle conditionne l'affinité entre le virus et les cellules-hôtes ; c'est aussi la cible des anticorps neutralisants et protecteurs contre l'infection virale. Elle est spécifique des différents sous-groupes du FeLV appelés FeLV-A, B, C et T et détermine la virulence, le spectre d'hôtes et la pathogénicité des sous-groupes. La protéine mineure de l'enveloppe, p15e (15 kDa), est transmembranaire. Elle est impliquée dans le rôle immunosuppresseur du virus : sa fixation entraîne l'activation du complément par la voie classique, et cause à terme une consommation complète des lymphocytes T. (Hartmann 2012; Rojko, Olsen 1984).

¹ Comité international de taxonomie des virus (ICTV) taxonomie en ligne : ictvonline.org/virustaxonomy.asp

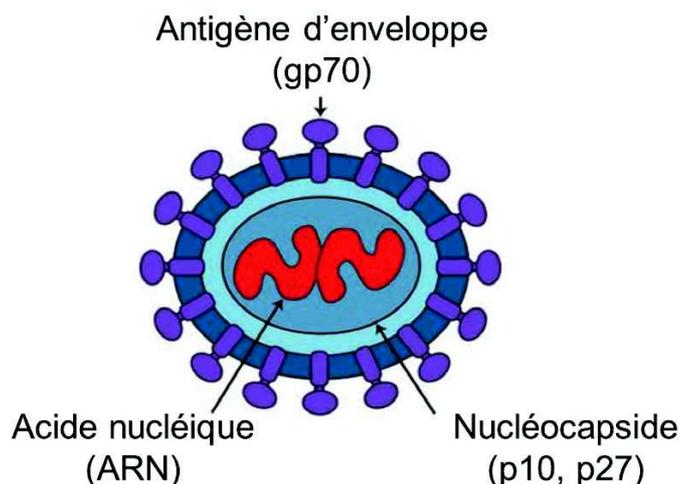


Figure 1. Constituants principaux du FeLV
d'après K. Hartmann dans *Infectious Diseases of the Dog and Cat 3rd edition*, C.E. Greene, 2006

Les isolats du FeLV sont actuellement classés en 4 sous-groupes A, B, C et T (Jarrett, Laird, Hay 1973; Anderson et al. 2000) selon leurs récepteurs préférentiels. Le sous-groupe A est la forme la plus fréquente du FeLV ; elle circule facilement dans les populations félines. Le sous-groupe B découle de la recombinaison *in vivo* entre FeLV-A et une forme endogène du FeLV, au niveau de l'extrémité 5' du gène *env* (Stewart et al. 1986). Le sous-groupe C semble issu de mutations spontanées du FeLV-A dans la région du gène *env* (Rigby et al. 1992). Enfin, le quatrième sous-groupe T est issu de mutations du FeLV-A ; ce variant du virus nécessite un cofacteur soluble supplémentaire pour infecter la cellule. La forte expression de ce cofacteur à la surface des lymphocytes T explique une forte affinité du FeLV-T pour ces cellules (Cheng, Anderson, Overbaugh 2007).

1.1.1.1 Structure génétique

Le FeLV est un rétrovirus typique dont le génome est constitué d'un brin d'ARN monocaténaire positif. Cet ARN est transcrit en ADN par l'enzyme transcriptase inverse ; il forme alors un provirus qui sera intégré au génome de la cellule-hôte (Hartmann 2012).

Le provirus comporte *a minima* trois gènes, représentés sur la Figure 2 : *gag*, ou « Group Associated Gene » code pour un précurseur des protéines structurales du virion, *pol* code pour la transcriptase reverse et *env* code pour les glycoprotéines d'enveloppe du virion (Tartaglia et al. 1993).

Lors de la transcription de l'ARN simple brin en ADN, les extrémités 5' et 3' de l'ARN sont dupliquées. Elles forment des segments de 300 à 1300 paires de bases (pb) qui fusionnent « en tandem » de part et d'autre de l'ADN viral, formant de longues séquences terminales appelées LTRs (long terminal repeats). Ces LTRs régulent l'expression des gènes viraux et, par là-même, la réplication et la pathogénie du virus (Coffin, Hughes, Varmus 1997).

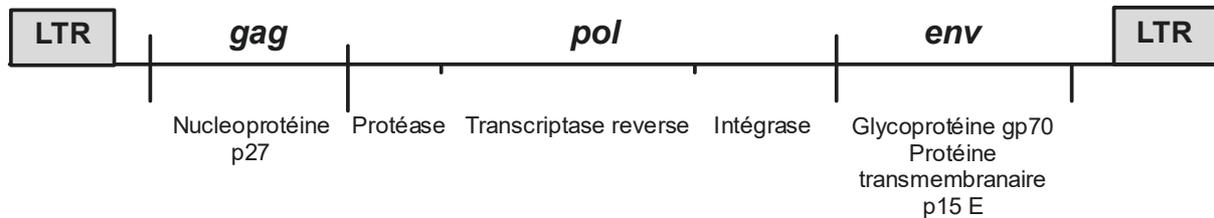


Figure 2. Représentation du provirus du FeLV
 LTR : séquences long terminal repeats, d'après Tartaglia 1993

Des séquences homologues au génome du FeLV ont été mises en évidence dans l'ADN de chats non infectés par le virus (Soe et al. 1983). Ces séquences de virus leucémogène félin endogène (enFeLV) sont transmises verticalement des adultes aux petits. Leur origine probable est l'intégration au génome félin lors d'une infection trans-spécifique par un virus murin. Des taux d'enFeLV très différents sont mis en évidence entre les chats de compagnie, les chats exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), les chats sauvages, ou même les différentes races. Ces séquences ne semblent pas présenter de caractère infectieux, mais pourraient contribuer à la pathogénie du virus lors d'infections exogènes. En effet, on retrouve des taux plus élevés d'enFeLV chez les chats séropositifs pour le FeLV exogène (Soe et al. 1985; Stewart et al. 2011; Tandon, Cattori, Willi, et al. 2008).

1.1.1.2 Réplication

L'aptitude des rétrovirus à s'intégrer au génome de la cellule infectée confère au FeLV une capacité de latence : ce dernier persiste au sein de la cellule sans induire sa destruction. Lors d'infection persistante, les antigènes associés au FeLV ne sont pas systématiquement détectés, mais la présence de provirus dans le sang peut être mise en évidence par PCR (Hofmann-Lehmann et al. 2001).

En outre, le FeLV a des effets oncogènes sur les cellules infectées, ce qui le classe dans la catégorie des oncovirus (Murphy et al. 1999).

1.1.1.2.1 Entrée dans la cellule hôte

L'entrée du virus est permise par l'interaction entre ses glycoprotéines de surface et des récepteurs membranaires de la cellule-hôte. Cette interaction très spécifique est le principal déterminant des espèces et types cellulaires ciblés par le virus. Elle conduit à la fusion des membranes qui libère le contenu de l'enveloppe virale dans la cellule (Coffin, Hughes, Varmus 1997).

1.1.1.2.2 Transcription – traduction

Le matériel génétique viral (ARN+) est ensuite traduit en ADN grâce à la reverse transcriptase, puis en ADN double brin grâce à l'ADN polymérase. Ce dernier passe alors sous forme circulaire par des liaisons non covalentes entre ses séquences terminales, puis il est transporté jusqu'au noyau et intégré au génome de la cellule infectée. Cet ADN intégré est appelé « provirus » : sa transcription par l'ARN polymérase de la cellule génère de nouveaux ARN pour les virions (Coffin 1979).

Dans le même temps, des ARN messagers (ARNm) viraux sont synthétisés et traduits en trois protéines principales : Gag, Pol et Env. La protéine Env s'insère dans le réticulum endoplasmique de la cellule, puis dans l'appareil de Golgi où elle est glycosylée, pour être intégrée à la membrane cellulaire. Les protéines Gag et Pol sont clivées et assemblées avec l'ARN viral, formant de nouvelles nucléocapsides qui viennent se placer contre la face interne de la membrane cellulaire (Tartaglia et al. 1993), comme vu sur la Figure 3.

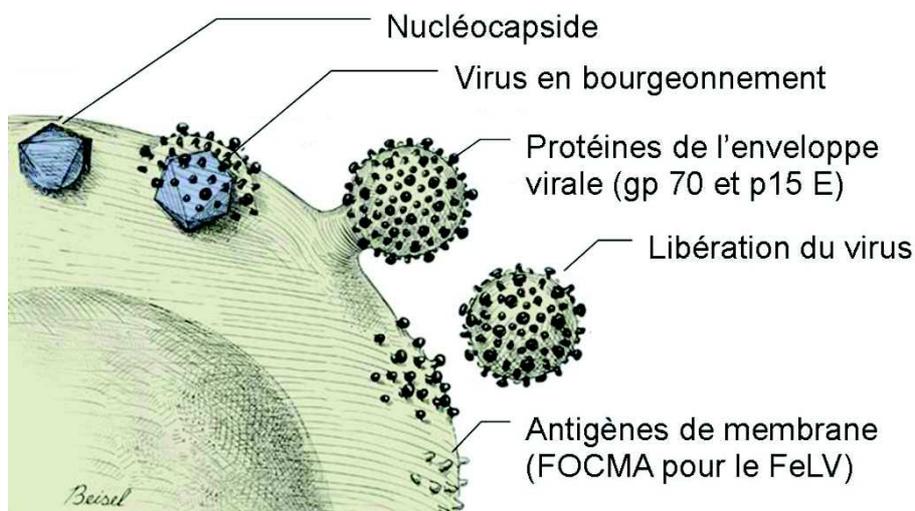


Figure 3. Production et libération du virus depuis la cellule infectée FOCMA : antigène de membrane de l'oncovirus félin (d'après K. Hartmann dans Infectious Diseases of the Dog and Cat 3rd edition, C.E. Greene, 2006)

1.1.1.2.3 Libération hors de la cellule

L'interaction entre ces structures et les protéines Env intégrées à la membrane permet leur bourgeonnement à travers la membrane de la cellule infectée ; les virions acquièrent ainsi une membrane plasmique propre (Figure 3). Les particules virales libérées subissent ensuite une maturation pour devenir de nouvelles unités infectantes.

Suite à l'infection par le FeLV, la cellule exprime à sa surface un antigène de membrane spécifique, appelé FOCMA. Cette protéine de 70 kDa présente des similitudes avec la protéine d'enveloppe du FeLV-C. En outre, le développement d'anticorps anti-FOCMA apparaît comme un facteur protecteur chez les chats exposés au FeLV (Snyder et al. 1983).

1.1.2 Epidémiologie

1.1.2.1 Populations infectées

1.1.2.1.1 Chez le chat

L'infection par le FeLV touche les chats domestiques du monde entier, à l'exception de l'île de la Grenade (Caraïbes), des Antilles et de l'île Isabela (Galápagos) où il n'a pas été détecté. Sa prévalence semble relativement homogène chez les chats errants puisqu'elle s'échelonne de 1% à 8% (Hartmann 2012).

En 2006, une étude nord-américaine sur plus de 18 000 chats a évalué la prévalence de l'infection à 2,3%. Cette incidence a tendance à diminuer depuis les années 1980 dans les populations de chats domestiques. Les programmes de dépistage associés à un retrait de la reproduction dans les élevages, à un isolement dans les refuges, ainsi que le développement de vaccins ont pu contribuer à la diminution de séroprévalence du virus (Levy et al. 2006a).

Plusieurs facteurs de risque ont été associés à un statut séropositif pour le FeLV : individus adultes, de sexe mâle avec un accès à l'extérieur. A l'inverse, le mode de vie en intérieur et la stérilisation sont associés à des taux d'infection réduits (Levy et al. 2006a). Si un comportement « social » avec des contacts rapprochés, un toilettage mutuel et le partage de la nourriture sont souvent considérés comme des facteurs de risque, il semblerait que les comportements agressifs jouent un rôle important dans la transmission du virus. Une étude américaine réalisée sur 967 chats présentés pour abcès ou morsures a montré une prévalence de 8,8% d'infection par le FeLV, significativement supérieure à la prévalence évaluée sur le territoire (Goldkamp et al. 2008).

Dans les conditions naturelles d'infections, les individus jeunes sont davantage susceptibles de développer une infection par le FeLV (Grant et al. 1980). Toutefois, en 2004, une étude prospective menée sur plus de 18000 chats met en évidence une incidence plus élevée de l'infection chez les adultes que sur les jeunes (moins de 6 mois), avec un rapport des cotes évalué à 2,5 (Levy et al. 2006b).

Historiquement, le FeLV était considéré comme l'agent infectieux le plus impliqué dans les syndromes cliniques et décès suite à des maladies chez le chat. Environ un tiers des décès associés à une tumeur étaient imputés au FeLV, de même que de nombreuses anémies et maladies infectieuses secondaires à une immunosuppression. Avec la diminution de la prévalence du FeLV, ces estimations sont aujourd'hui revues à la baisse. En 2000, une étude à long terme a cherché à mettre en évidence l'impact de trois virus félines dans un foyer fermé sur 10 ans. Il apparaît que l'infection par le FeLV est celle qui augmente le plus le taux de mortalité des sujets étudiés, comparée à l'infection par le coronavirus félin endémique (FCoV) et le FIV (Addie et al. 2000).

1.1.2.1.2 Chez les félins non domestiques

Le FeLV est capable d'infecter certaines espèces de chats sauvages comme *Felis sylvestris* (Daniels et al. 1999), le lynx ibérique (Luaces et al. 2008; Meli et al. 2010) ou le lynx roux (Sleeman et al. 2001). L'infection par le FeLV est particulièrement problématique lorsque le virus infecte des espèces sauvages protégées. C'est par exemple le cas du Puma de Floride (*Puma concolor coryi*) pour lequel un programme de vaccination avec un vaccin inactivé, Fevaxyn®, a été mis en place suite à la détection du virus entre 2000 et 2007 (Cunningham et al. 2008).

1.1.2.2 Transmission

1.1.2.2.1 Transmission horizontale

Les premières études sur la transmission du FeLV ont eu lieu suite à la découverte par Bill Jarrett d'un groupe de 8 chats sans lien de parenté infectés dans le même foyer. Auparavant, une propagation du virus avait été observée suite à l'introduction d'un mâle ou de chatons infectés au sein d'un foyer sain. Les résultats de ces études ont mis en évidence une transmission horizontale du virus entre les animaux en contact direct (Jarrett 1972).

La principale sécrétion mise en cause dans cette transmission horizontale est la salive des chats virémiques. En effet, il apparaît que son titre en matière virulente, en moyenne $2,2 \times 10^5$

unités infectieuses de FeLV/ml de salive, est très supérieur à ceux retrouvés dans les urines ou les excréments, et peut même être supérieur à celui du plasma (Francis, Essex, Hardy 1977; M. A. Gomes-Keller et al. 2006).

Afin d'évaluer le potentiel de contamination de la salive des chats virémiques, la capacité de survie du FeLV dans l'environnement a été mesurée. Il apparaît que si le titre en FeLV dans la salive diminue rapidement sur les surfaces sèches, le virus reste détectable en quantité significative durant 30 à 60 minutes. Le partage des récipients destinés à l'eau et à la nourriture peut donc être considéré comme une source potentielle de contamination au sein d'un foyer (Francis, Essex, Gayzagian 1979).

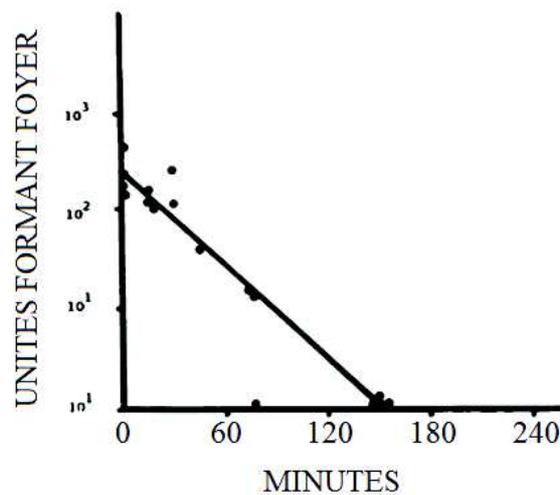


Figure 4. Survie du FeLV dans la salive après séchage sur lames de verre à température ambiante (24°C), Francis et al. 1979

En 2006, une étude de Gomes-Keller a tenté d'évaluer l'excrétion salivaire de l'ARN viral chez les chats infectés par le FeLV. Il apparaît que les infectés latents, porteurs de petites quantités de virus (2–166 copies de provirus/10⁴ cellules) n'ont pas d'excrétion détectable de virions dans leur salive, mais peuvent abriter de l'ARN viral. Toutefois, si ces chats ne représentaient pas une source de contamination au moment du test, ils sont susceptibles de ré-excréter le virus, en particulier lors d'un stress. Aussi, en l'absence de suivi de l'excrétion virale chez ces individus, il est suggéré de les isoler des chats sains susceptibles de contracter le virus (M. A. Gomes-Keller et al. 2006).

De manière générale, les contacts proches et/ou prolongés avec la salive ou les sécrétions nasales des chats infectés, que ce soit par le partage des récipients ou le toilettage mutuel dans les communautés de chats, est nécessaire à la transmission du virus (Caney 2000).

1.1.2.2.2 Transmission verticale

La transmission directe du virus via les gamètes *in utero* n'est pas documentée à l'heure actuelle. La transmission à travers le placenta se produit dans de rares cas, mais elle est limitée du fait des problèmes de reproduction fréquemment rencontrés chez les chattes infectées par le FeLV (Caney 2000).

Une étude de Pacitti et al. évoque la possibilité d'une transmission entre une chatte infectée latente et plusieurs de ses chatons. L'acquisition d'une virémie par les chatons à partir de 45 jours d'âge, ainsi que la mise en évidence de FeLV infectieux dans le lait, sont en faveur d'une transmission par le lait lors de réactivations du virus chez la mère (Pacitti, Jarrett, Hay 1986).

1.1.2.2.3 Transmission vectorielle

L'étude de ce mode de transmission est encore très limitée. En 2003, l'équipe de Vobis s'est penchée sur le rôle potentiel de la puce du chat (*Ctenocephalides felis*) dans la transmission vectorielle du FeLV. Les puces étaient nourries pendant 24 heures sur un échantillon de sang provenant d'un chat infecté avec une virémie persistante. Par la suite, elles étaient nourries sur un échantillon de sang provenant d'un chat sain pendant 5 à 24 heures. Après ce second repas, l'ARN du FeLV était encore détectable dans les puces, dans leur fèces, mais aussi dans le sang non consommé lors du repas (initialement non infecté). Ce constat n'était pas retrouvé suite à un troisième repas sur le sang provenant d'un chat sain.

Cette étude montre que le virus peut être acheminé entre individus via la puce, ses pièces buccales ou ses excréments. Toutefois, elle n'informe pas sur la capacité du virus à rester infectant *in vivo* suite à sa transmission via ce vecteur (Vobis et al. 2003).

1.1.3 Evolution du virus dans l'organisme

L'infection par le FeLV peut avoir plusieurs issues. Classiquement, les modes d'infections sont classés en quatre catégories : infection indétectable, transitoire, latente et persistante. Les premières études réalisées afin de déterminer la pathogénicité du virus s'appuyaient sur la détection d'antigènes ou l'isolement du virus (Rojko et al. 1979).

Des outils de diagnostic plus récents et plus sensibles, en particulier la réaction de polymérase en chaîne (PCR) en temps réel, ont permis d'affiner le modèle d'infection par le FeLV, en détectant les taux d'ADN proviral et d'ARN viral chez les chats infectés. Ainsi, il apparaît que certains animaux séronégatifs, considérés comme immunisés contre le virus,

abritent de l'ADN proviral durant plusieurs années et sont susceptibles, après réactivation, d'excréter de nouveau le virus (Hofmann-Lehmann et al. 2008).

Dès lors, une nouvelle classification est établie et les stades d'infection par le FeLV sont décrits comme : infection abortive (élimination complète), régressive (ou transitoire), latente, progressive (ou persistante) ou focale (Levy et al. 2008 ; Hartmann 2012). Le Tableau 1 détaille les résultats des tests diagnostiques et le risque de développement de leucose féline associé à chaque type d'infection.

Tableau 1. Récapitulatif des modes d'infection par le FeLV (d'après Levy et al. 2008)

Mode d'infection	Détection dans le sang	Détection dans les tissus	Portage du virus	Déclaration de leucose féline
Progressif	Antigène p27, Isolement viral, ARN viral, ADN proviral	Isolement viral	Positif	Probable
Régressif	ADN proviral et/ou ARN viral à bas bruit	Non	Négatif	Peu probable
Abortif	Non	Non	Négatif	Peu probable
Latent	Antigène p27 transitoire, ADN proviral et/ou ARN viral à bas bruit	Isolement dans la moelle	Variable	Peu probable

On notera toutefois que l'infection abortive, telle que décrite par Torres et al., n'est retrouvée chez aucun animal dans des études utilisant un modèle de PCR différent (Torres, Mathiason, Hoover 2005; Hofmann-Lehmann et al. 2006, 2007; Torres et al. 2010).

Chez certains chats, une antigénémie et des taux d'ARN viral importants sont retrouvés de manière transitoire, associés à des taux modérés d'ADN proviral dans le sang, ces animaux sont qualifiés d'infectés latents (Torres et al. 2010).

Les études de Torres (2005), Pepin (2007) et Hofmann-Lehmann (2001) suggèrent que la plupart des chats demeurent infectés à vie suite à l'exposition virale, mais pourraient revenir à un stade avirémique (infection régressive) associé à un statut séronégatif pour l'antigène p27 et à une persistance de l'ADN proviral détectable par PCR dans le sang. Il apparaît peu probable que ces chats excrètent le virus dans leur salive et représentent, à ce titre, une source d'infection pour leurs congénères.

Toutefois, l'ADN proviral pourrait constituer une source d'infection suite à une transfusion. En 2015, une étude de Nesina et al. met en évidence une infection active par le FeLV chez 10 chats ayant reçu une transfusion de sang provenant de chats non virémiques mais porteurs

d'ADN proviral. Deux chats ont développé une infection progressive et sont morts suite au développement d'un lymphome et d'une anémie non-régénérative. Deux autres ont présenté une infection régressive, mais ont développé des lymphomes T multicentriques suite à la réactivation du virus (Nesina et al. 2015).

La présence continue du provirus pourrait expliquer la persistance à long terme d'anticorps neutralisants pour le FeLV chez les chats exposés (Hofmann-Lehmann et al. 2001; Pepin et al. 2007 ; Torres, Mathiason, Hoover 2005).

1.1.3.1 Réplication locale

La transmission du virus aux chats sensibles se fait dans la plupart des cas par voie oronasale. Suite à l'inoculation par les muqueuses, le virus entame sa réplication dans les lymphocytes et les macrophages des tissus lymphoïdes locaux des amygdales et du pharynx, et possiblement dans les tissus lymphoïdes du tractus digestif. Cette prolifération locale peut durer une à deux semaines (Rojko, Hoover, Mathes, Olsen, et al. 1979 ; Caney 2000 ; Hartmann 2012).

1.1.3.2 Virémie transitoire

A l'issue de cette phase de réplication précoce, certains chats immunocompétents qualifiés de « regressor cats » sont capables d'éliminer complètement le virus : c'est l'infection abortive. En l'absence de réponse immunitaire adaptée, le virus infecte une petite quantité de lymphocytes et de monocytes circulants, ce qui donne lieu à une virémie transitoire (Figure 5).

Durant cette phase de virémie initiale, l'antigène p27 est détectable dans le sang. Des manifestations cliniques frustes peuvent aussi être observées : abattement, hyperthermie ou adénomégalie (Hartmann 2012).

1.1.3.1 Extension aux autres tissus lymphoïdes

La virémie transitoire permet au FeLV d'infecter les organes cibles, en particulier le thymus, la rate, les nœuds lymphatiques périphériques et les glandes salivaires. Elle dure le plus souvent entre 3 et 6 semaines, le maximum admis pour parler de virémie transitoire étant 16 semaines post-infection (Hartmann 2012). Les chats infectés restent porteurs du virus et sources d'infection durant toute la phase de virémie transitoire. Dans la plupart des cas, la réponse immunitaire permet de mettre un terme à la virémie, avant que la moelle osseuse ne soit atteinte par le virus : on parle alors d'infection régressive.

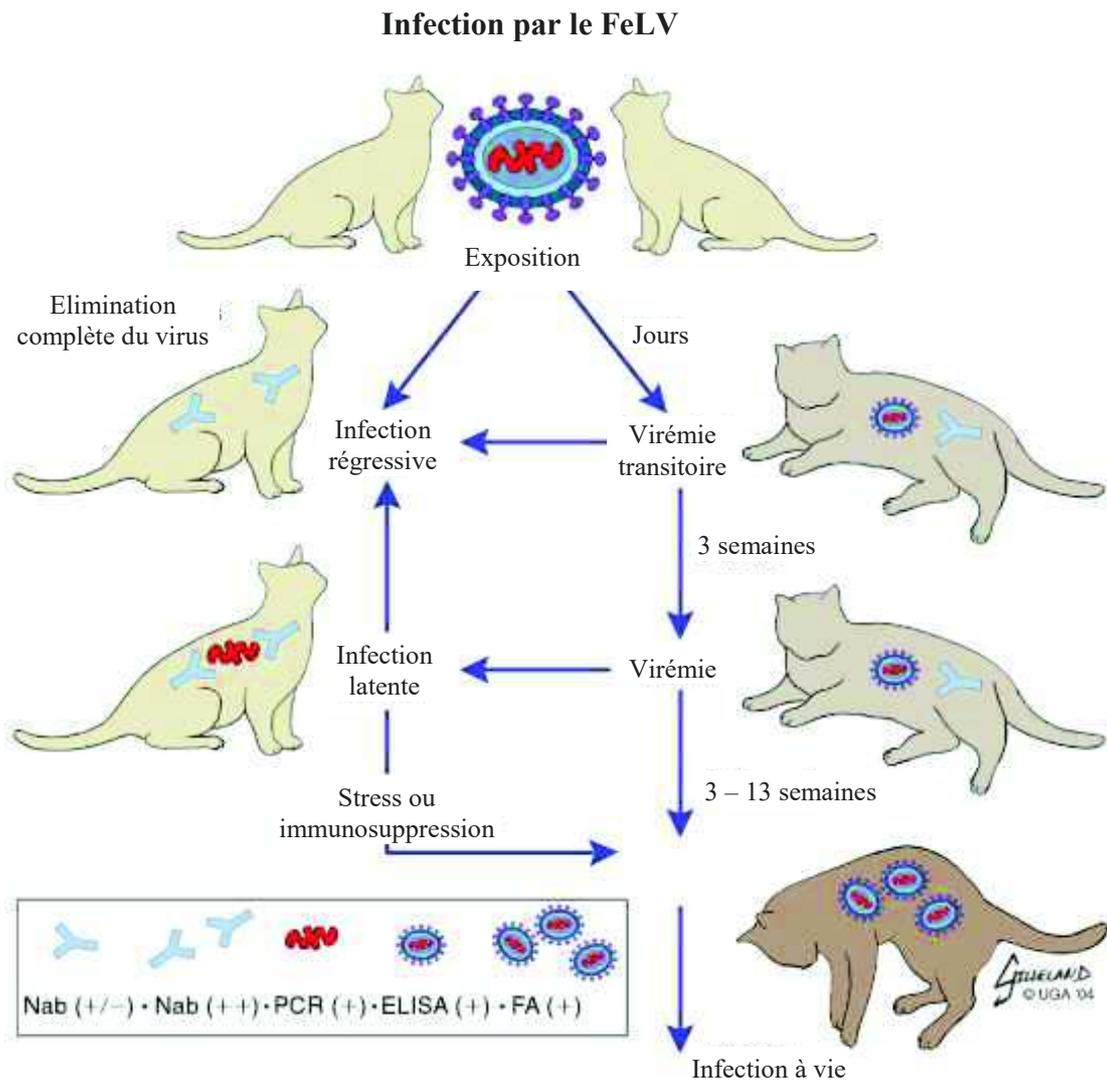


Figure 5. Issues possibles suite à une infection par le FeLV

Nab : anticorps séro-neutralisants, PCR : réaction de polymérase en chaîne, ELISA : détection d'antigène p27 par immunoabsorption à enzyme conjuguée, FA : détection d'antigène p27 par fluorescence. D'après Pr. Katrinn Hartmann dans *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Craig E. Greene, Elsevier Health Sciences, 2013

A partir de trois semaines de persistance de la virémie, les cellules de la moelle osseuse peuvent être infectées par le FeLV. Une fois cette infection établie, l'élimination complète du virus dans l'organisme devient impossible. Toutefois, certains animaux parviennent à contrôler l'infection à ce stade : ils deviennent alors avirémiques, mais continuent d'abriter le virus dans les cellules-souches de la moelle osseuse. Ce type d'infection régressive est qualifié d'infection latente.

La majorité des chats infectés latents éliminent complètement l'ADN proviral 9 à 16 mois après l'infection. Après 30 mois, seuls un tiers des animaux demeurent infectés latents (Levy et al. 2008).

Les chats infectés régressifs (ou transitoires) ne sont pas dépistés par les tests de routine basés sur la détection d'antigènes. Ils développent une immunité forte contre le FeLV et sont ainsi protégés lors d'expositions ultérieures. Le risque de développer une maladie associée au FeLV (leucose féline) est faible chez ces individus, même si l'ADN proviral demeure détectable par PCR dans le sang (Flynn et al. 2002).

Si l'infection régressive n'est pas associée à un risque de contamination, l'infection virale productive avec virémie peut être réactivée *in vivo*, spontanément suite à un stress ou en réponse à une suppression de l'immunité (Rojko et al. 1982). Cette réactivation peut ainsi être induite par l'administration de glucocorticoïdes à fortes doses ou par la sécrétion de progestérone lors de la gestation. La réactivation est d'autant plus facile que la phase de virémie est récente : elle devient peu probable un an après infection et très difficile après deux ans (Hartmann 2012).

Dans de rares cas décrits par Pacitti (1986) et Hayes (1989), l'infection peut être contenue dans certains tissus tels que la rate, les nœuds lymphatiques, l'intestin grêle ou les glandes mammaires. Des cas de réplication locale atypique dans les glandes mammaires, la vessie et les yeux sont aussi décrits. On parle alors d'infection focale (Pacitti, Jarrett, Hay 1986; Hayes et al. 1989). Elle peut mener à une production intermittente de bas grade d'antigène p27, qui rend difficile le diagnostic par détection antigénique. L'infection focale des glandes mammaires peut être associée à une transmission du virus par le lait, même en l'absence d'antigénémie détectable par les tests.

1.1.3.2 Atteinte de la moelle osseuse et de l'épithélium intestinal

En l'absence de contrôle précoce de l'infection par le système immunitaire, elle s'étend depuis les tissus lymphoïdes jusqu'à la moelle osseuse et à l'épithélium des cryptes intestinales. Dans les stades précoces de l'infection, un tropisme du FeLV pour les cellules à division rapide est décrit (Rojko, Hoover, Mathes, Olsen, et al. 1979).

1.1.3.3 Etablissement de la virémie persistante

L'atteinte des précurseurs hématopoïétiques entraîne la production de granulocytes et de plaquettes infectés qui se répandent dans la circulation générale, aboutissant à de forts taux de virus dans le sang : l'infection est dite progressive.

L'infection progressive est caractérisée par une insuffisance de la réponse immunitaire spécifique au FeLV : les niveaux d'anticorps neutralisants détectés chez les chats infectés progressifs sont particulièrement bas. La conséquence est une virémie qui se prolonge au-delà

de 16 semaines, qualifiée de virémie persistante. Les chats infectés progressifs développent alors une leucose féline et la plupart meurent de troubles liés au FeLV dans les 3 années suivant l'infection (Hartmann 2012).

1.1.3.4 Colonisation des épithéliums muqueux et excrétion du virus

L'infection progressive s'accompagne de la colonisation des épithéliums muqueux et intestinaux, et ainsi de l'excrétion du virus en grande quantité notamment dans la salive (Rojko, Hoover, Mathes, Olsen, et al. 1979). Cette excrétion, ainsi que la virémie, persistent toute la vie de l'animal infecté et le FeLV continue sa réplication dans la moelle osseuse, la rate, les nœuds lymphatiques et les glandes salivaires.

Les méthodes de prévention contre le FeLV visent à protéger les chats contre une infection progressive, à l'origine des troubles de l'hématopoïèse et de la dissémination du virus. Il apparaît donc capital de différencier ce mode d'évolution d'une infection régressive.

Les deux types d'infections peuvent être distingués par des tests répétés de détection des antigènes viraux. Ces derniers sont mis en évidence chez la plupart des chats infectés durant les 2 à 3 semaines post-exposition. Une infection régressive sera associée à un test négatif deux à huit semaines plus tard, ou dans de rares cas, après quelques mois. A l'inverse, une infection progressive sera associée à plusieurs résultats positifs entre trois et quinze semaines.

La détection de l'ADN proviral dans le sang a peu d'intérêt, puisque le provirus persiste à long terme dans les deux cas, comme montré sur la Figure 6. Toutefois, la quantification des taux d'ARN viral et d'ADN proviral dans les lymphocytes met en évidence une charge virale importante dont l'origine est la moelle osseuse dans l'infection progressive, alors que l'infection régressive est associée à une infection non productive, dans un petit nombre de lymphocytes.

Si l'infection progressive n'est pas différenciable de l'infection régressive dans la période d'infection aiguë, la quantification de la charge virale est fortement associée à l'évolution clinique après la deuxième semaine post-exposition : les chats infectés de manière persistante présentent des taux d'ADN proviral et d'ARN viral significativement supérieurs à ceux dont l'infection est contenue (Hofmann-Lehmann et al. 2006). Cette orientation vers l'une de ces évolutions semble conditionnée par la présence de leucocytes spécifiques, plutôt que par la charge virale globale en début d'infection (Pepin et al. 2007).

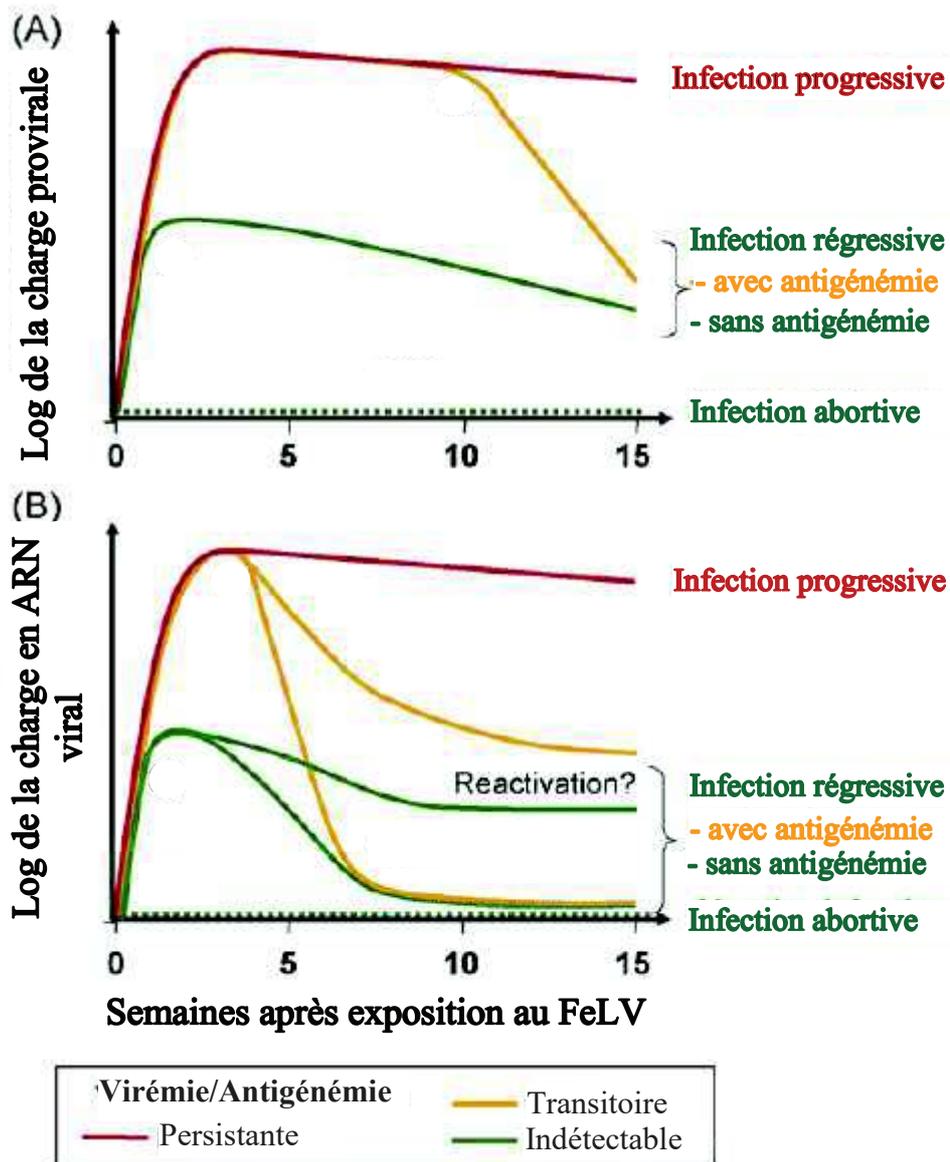


Figure 6. Evolution de la charge plasmatique en provirus (A) et en ARN viral (B) au cours du temps, d'après R. Hofmann-Lehmann et al. 2008

Ainsi, la réponse immunitaire de l'organisme face au FeLV est un élément déterminant de l'évolution du virus chez le chat.

1.1.4 Réponse immunitaire au FeLV

L'interaction hôte-virus qui détermine l'issue de l'infection par le FeLV a lieu dans les tissus lymphoïdes, le sang et la moelle osseuse, durant les 4 à 6 premières semaines post-exposition (Hoover et al. 1977; Rojko, Hoover, Mathes, Olsen, et al. 1979). Le processus est étroitement lié à l'intégrité fonctionnelle de ces structures, ainsi qu'à l'immunocompétence du chat.

La réponse immunitaire à une infection virale fait intervenir différents mécanismes. L'immunité non spécifique constitue la première ligne de défense de l'organisme ; elle englobe des mécanismes tels que l'hyperthermie, l'activation du complément, les interférons de type I, les cellules phagocytaires et le système de reconnaissance des micro-organismes des cellules présentatrices de d'antigènes.

L'immunité spécifique se met en place lorsque le virus échappe à la réponse non spécifique et persiste dans l'organisme. Elle fait intervenir des mécanismes cellulaires, en particulier via les lymphocytes T cytotoxiques, et humoraux grâce aux anticorps et au système du complément.

1.1.4.1 Réponse immunitaire à médiation humorale

La réponse immunitaire à médiation humorale fait intervenir les anticorps et le système du complément. Une forte concentration en anticorps anti-FeLV est constatée chez la plupart des chats virémiques. Ces anticorps sont dirigés contre tous les composants du virus (Lutz et al. 1980 ; Russell, Jarrett 1978).

Les systèmes d'antigènes à considérer dans l'analyse de la réponse immunitaire au FeLV peuvent être groupés en deux catégories : les constituants du virion en lui-même et les antigènes retrouvés à la surface des cellules infectées et/ou transformées (Essex et al. 1976).

1.1.4.1.1 Anticorps séro-neutralisants

La réponse à médiation humorale agit sur le virus libre : la fixation des anticorps séro-neutralisants, ou AcSN, permet à la fois d'empêcher la reconnaissance et l'adsorption cellulaire par le virus, de favoriser la phagocytose par les macrophages et d'activer le complément (opsonisation et phagocytose). En particulier, le FeLV infecte les cellules grâce à la liaison entre la glycoprotéine majeure d'enveloppe (gp70) et les récepteurs cellulaires. Les épitopes de cette glycoprotéine sont la cible des AcSN (Rojko, Olsen 1984; Essex et al. 1976).

Chez les chats exposés au virus, naturellement ou expérimentalement, l'infection persistante est généralement associée à un titre en AcSN faible à nul. A contrario, la plupart des chats présentant une infection régressive ou abortive présentent des taux élevés d'AcSN (Sparkes 2003). De plus, le transfert passif de ces anticorps a un effet protecteur contre la virémie, lors de l'exposition expérimentale au virus (Rojko, Olsen 1984; Hoover et al. 1977).

1.1.4.1.2 Autres anticorps antiviraux

En plus des AcSN dirigés contre la protéine gp70, il apparaît que les chats infectés par le FeLV développent des anticorps contre une grande variété de protéines virales incluant les protéines d'enveloppe (p15E), les antigènes du noyau (p10, p12, p15, p27) ou encore l'enzyme reverse-transcriptase du virus (Lutz et al. 1980; Charreyre C, Pedersen Nc 1991; Essex et al. 1976 ; Snyder 1985).

La production d'anticorps dirigés contre ces protéines tend à être plus importante chez les chats résistants à l'infection persistante (Hawks et al. 1991). Toutefois, la variété des anticorps synthétisés est similaire chez les chats infectés progressifs et ceux qui parviennent à éliminer l'infection.

Si les anticorps peuvent avoir un effet protecteur, leur développement est associé à la formation d'immuns complexes qui peuvent avoir des effets délétères sur les chats infectés, en particulier par dépôt sur les glomérules rénaux.

1.1.4.1.3 Anticorps anti-FOCMA

En plus des protéines du noyau et de l'enveloppe virale, il apparaît que des structures antigéniques différentes de ces protéines structurales soient retrouvées à la surface des cellules infectées et/ou transformées. Ces éléments pourraient être constitués d'antigènes dégénérés, ou de structures induites par le développement du virus.

Cette réactivité immunitaire spécifique retrouvée à la surface des cellules infectées est appelée FOCMA pour *feline oncornavirus-associated cell membrane antigen* (FOCMA). Il n'existe pas de réaction croisée significative entre le FOCMA et les autres oncovirus (Essex et al. 1976). L'origine du FOCMA est encore mal définie : il existe des réactions d'immuno-précipitation croisées entre les anticorps monoclonaux anti-FOCMA et les anticorps monoclonaux dirigés contre la gp70 du FeLV-C (Vedbrat et al. 1983).

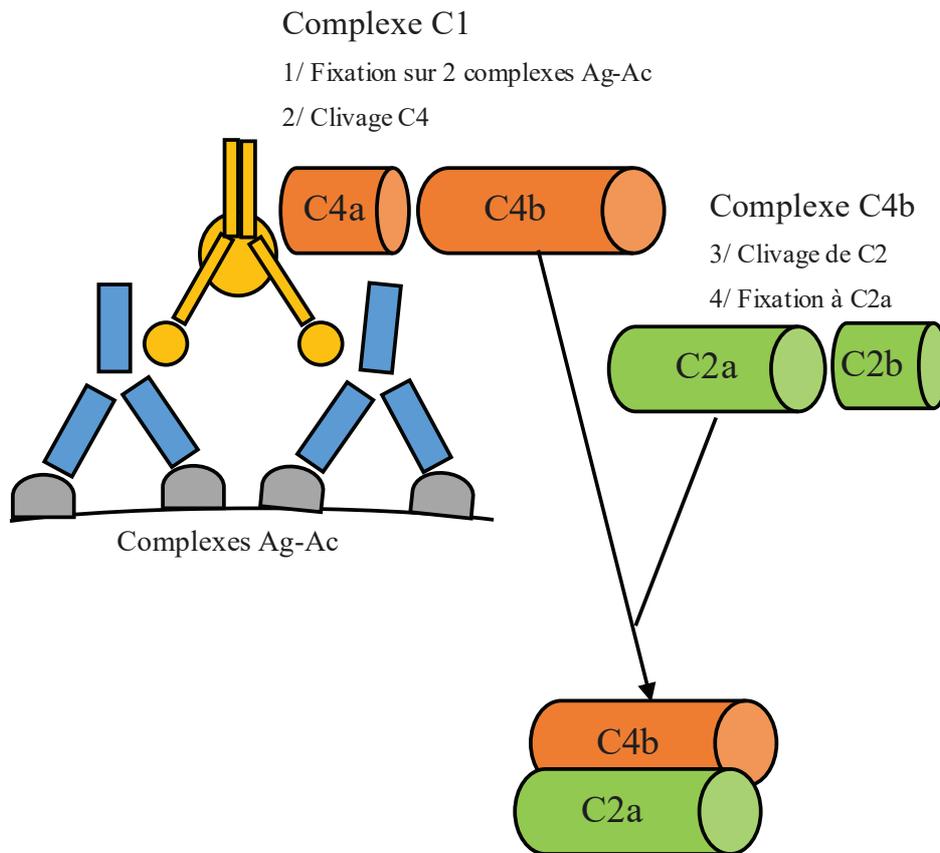
Une autre hypothèse serait que le FOCMA représenterait des antigènes endogènes du FeLV exprimés à la surface des cellules hématopoïétiques et lymphoïdes transformées par le virus (Rojko, Kociba 1991).

Si la synthèse d'anticorps anti-FOCMA ne semble pas avoir de lien avec la virémie, des titres élevés semblent être associés à un effet protecteur contre le développement des processus néoplasiques associés au FeLV. De larges études séro-épidémiologiques ont montré que les

chats développant des lymphomes ou des leucémies présentaient des titres en anticorps anti-FOCMA faibles à nuls, alors que des titres élevés étaient associés à un effet protecteur contre ces cancers. La réponse anti-FOCMA semble ainsi l'origine d'un effet anti-tumoral, en participant à la destruction des cellules transformées par le FeLV, via l'activation du complément. Toutefois, elle ne protège pas contre les affections dégénératives liées au FeLV, telles que les anémies, thrombopénies ou leucopénies (Essex et al. 1971; William D. Hardy et al. 1976).

1.1.4.1.4 Complément

Une lyse des rétrovirus de type C (ou oncornavirus), dont le FeLV, est observée par incubation avec du sérum de différents mammifères en l'absence d'anticorps, suite à l'activation du complément (Gallagher et al. 1978). Toutefois, la virolyse induite par le sérum félin sur le FeLV ne représente que 10 à 30 % de celle induite chez les primates (humains, gibbons, babouins). Cette faible efficacité du complément félin dans la virolyse du FeLV pourrait expliquer la forte prévalence des désordres hématopoïétiques chez les chats atteints.



**Figure 7. Premières étapes de l'activation du complément (voie classique)
Ag-Ac : antigène-anticorps**

In vitro, l'incubation à 37°C de sérum de chat sain avec du FeLV purifié entraîne une activation du complément par la voie classique (Figure 7), associée à une consommation des complexes C1, C4, C2 et C3. En 1979, Kobilinsky et al. montrent une réaction diminuée du complément chez les chats infectés persistants par le FeLV présentant un lymphome. En particulier, une baisse marquée des complexes C1q, C4 et C2 (voie classique) est constatée. Toutefois, aucune différence n'est notée entre les activités virolytiques des sérums de chats sains, virémiques ou atteints de lymphosarcomes. Cette activité du complément ne semble pas non plus corrélée au taux d'anticorps neutralisants (Kobilinsky et al. 1980).

1.1.4.2 Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Il a été vu précédemment que les anticorps séro-neutralisants jouent un rôle dans l'élimination de l'infection chez les chats virémiques. Or, la majorité des chats qui développent une infection transitoire guérissent avant que ces anticorps ne soient détectés dans le sang, suggérant que l'immunité cellulaire pourrait jouer un rôle important dans l'élimination du virus (Flynn et al. 2002).

Un autre argument en faveur de cette hypothèse est le développement d'une infection active chez des chats naïfs transfusés avec du sang de chats infectés de manière régressive (Nesina et al. 2015). En effet, les effecteurs immunitaires protégeant les chats donneurs de l'infection progressive ne sont pas transférés avec le sang lors de la transfusion, ou transférés en quantité insuffisante.

1.1.4.2.1 Macrophages

Les macrophages sont activés par les lymphocytes T auxiliaires 1 (LTa1), via deux cytokines : l'interféron γ et l'interleukine 2 (IL2). L'activation se traduit par des modifications morphologiques et énergétiques. Elle confère aux macrophages une action anti-tumorale : ils deviennent capables de phagocyter les cellules cancéreuses si ces dernières présentent des anticorps à leur surface.

Le FeLV, à l'instar de nombreux autres virus, établit une infection persistante par colonisation des macrophages, qui peut être associée à un dysfonctionnement des cellules-hôtes. Il apparaît que si les capacités de phagocytose des macrophages isolés sont équivalentes chez le chaton et l'adulte, les macrophages issus de chatons sont 5 fois plus sensibles à l'infection par le FeLV que les adultes (Rojko, Olsen 1984). Le même constat était dressé par les travaux de Hoover et al. en 1976 : l'inoculation du FeLV était associée à une virémie

persistante et le développement de leucose féline chez 100% des chats nouveau-nés, 85% des chats infectés entre 2 semaines et 2 mois d'âge et seulement 15% des chats infectés entre 4 mois et 1 an (Hoover et al. 1976).

Cette résistance maturation-dépendante des macrophages peut être inhibée spécifiquement par l'administration de prednisolone ou d'hydrocortisone (Rojko, Hoover, Mathes, Krakowka, et al. 1979; Hoover et al. 1981). En effet, il a été montré que les glucocorticoïdes peuvent inhiber rapidement (moins de 30 minutes) la phagocytose et la production d'anion superoxyde chez des macrophages péritonéaux murins (Löwenberg et al. 2007).

1.1.4.2.2 Lymphocytes T

Les précurseurs des lymphocytes T dérivent du foie pendant la vie fœtale et de la moelle osseuse après la naissance. Ces précurseurs rejoignent le thymus à la naissance, où ils acquièrent le récepteur pour l'antigène des lymphocytes T (TCR), puis un marqueur CD4 ou CD8 qui détermine leur fonction dans la réponse immunitaire.

Les lymphocytes T exprimant le CD4 à leur surface sont appelés lymphocytes T auxiliaires (LTa), ou encore « helper », « regulator », « suppressor ». Ils permettent la régulation de la réponse immunitaire par la synthèse de cytokines.

Les lymphocytes T exprimant le CD8 à leur surface ont une activité cytotoxique.

La mise en place de lymphocytes T spécifiques du FeLV a été mise en évidence, avant la formation des anticorps neutralisants. Le transfert de ces lymphocytes stimulés *in vitro* à des chats virémiques est associé à une diminution de la charge virale (Flynn et al. 2002).

1.1.4.2.2.1 Lymphocytes T cytotoxiques

Les lymphocytes T cytotoxiques, ou CTL, peuvent reconnaître n'importe quelle cellule nucléée, dont les cellules présentatrices d'antigène. Ils se lient aux cellules en reconnaissant une molécule d'histocompatibilité de classe I (CMH-I) liée à un peptide antigénique intracellulaire. Leur activation nécessite une sensibilisation préalable à l'antigène via les cellules présentatrices d'antigène.

L'action cytotoxique se fait par cytolysse grâce à des perforines qui fragilisent la membrane cellulaire et des granzymes (protéolyse intracellulaire), ou par l'activation de capsases à l'origine d'un signal d'apoptose.

Les lymphocytes T cytotoxiques font partie des cellules-cibles du FeLV lors de l'infection latente. Ils peuvent être à l'origine de libération du virus dans l'organisme en cas de réaction provoquée *in vitro* ou *in vivo* (Rojko et al. 1982).

L'importance critique des CTLs spécifiques dans le contrôle de la réplication des rétrovirus et du développement des tumeurs associées a été démontrée tant sur les modèles animaux qu'humains. En 2000, Flynn et al. mettent en évidence une immunité protectrice suite à l'inoculation d'un vaccin à ADN de FeLV, en l'absence de réponse immunitaire à médiation humorale. Lors de cette expérience, les chats inoculés résistants présentaient des taux élevés en lymphocytes T cytotoxiques spécifiques du FeLV (Flynn, Hanlon, Jarrett 2000).

Par la suite, l'étude longitudinale de la fréquence des CTLs spécifiques du FeLV et de la charge virale plasmatique révélait une corrélation claire entre de hauts niveaux de CTLs spécifiques circulants et la guérison suivant l'exposition au FeLV. De plus, il apparaît que le transfert de lymphoblastes autologues activés par des antigènes est associé à une diminution de la réplication virale *in vivo* (Flynn et al. 2002).

Ces expériences tendent à montrer le rôle majeur des lymphocytes T cytotoxiques dans la réponse immunitaire protectrice contre le FeLV.

1.1.4.2.2.2 Lymphocytes T auxiliaires ou « helpers »

Ces lymphocytes reconnaissent l'association portée par une cellule présentatrice d'antigène d'une molécule d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) avec un peptide antigénique extracellulaire. Les principales catégories de LTa sont :

- Les LTa1 : ils favorisent l'immunité à médiation cellulaire, ils entraînent la sécrétion d'interleukine 2 et d'interféron γ ;
- Les LTa2 : ils favorisent l'immunité à médiation humorale avec la synthèse d'immunoglobulines A et E, leur activation entraîne la production d'interleukines IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13.

C'est l'action de ces LTa qui permet à la fois la présentation des antigènes via les CMH, et l'activation de cellules effectrices telles que les macrophages, impliqués dans la phagocytose des cellules infectées ou transformées par le FeLV, et les lymphocytes B à l'origine de la production des anticorps séro-neutralisants protecteurs. Leur rôle dans l'immunité contre le FeLV est principalement un rôle de coopération cellulaire.

1.1.4.2.3 Lymphocytes Natural Killer et interféron

Les Lymphocytes Natural Killer, ou Grands Lymphocytes à Grains représentent 5 à 10% des cellules mononuclées sanguines. Elles ont une action cytotoxique semblable à celle des LTc par le biais de perforines et de granzymes. Elles fonctionnent sans présentation antigénique préalable, grâce à des récepteurs de type KIR (Killer Ig-like Receptor) activés en présence d'anomalies du CMH. Ces cellules sont activées par action d'interféron gamma, qui fait partie des traitements antiviraux actuellement utilisés contre le FeLV avec une bonne efficacité *in vivo* (Hartmann 2015).

L'activité des lymphocytes Natural Killer, souvent essentielle dans le contrôle des cellules cancéreuse ou infectées, est aussi liée à l'âge et se déroule dans la moelle et les tissus lymphoïdes (Rojko, Olsen 1984).

1.1.4.2.4 Lymphocytes Cell Killer

Leur fonctionnement est semblable à celui des cellules Natural Killer, mais fait intervenir la reconnaissance d'immunoglobulines. Ce mécanisme de cytolysse par l'intermédiaire d'anticorps est appelé Antibody Dependant Cell Cytotoxicity. Cette activité cytotoxique est mise en évidence en 1982 lors de réactivations de l'infection par le FeLV chez des chats en infection régressive (Rojko et al. 1982).

1.1.4.3 Action immunosuppressive du virus

L'immunosuppression chez les chats infectés par le FeLV fait intervenir plusieurs mécanismes. La cytotoxicité par l'intermédiaire d'anticorps a été impliquée dans les mécanismes de résistance tumorale chez d'autres espèces. Toutefois, il apparaît que si les lymphocytes périphériques du chat sont capables d'avoir une activité cytotoxique à médiation cellulaire, ils ne parviennent pas à induire la lyse des cellules infectées par le FeLV en présence des antigènes anti-FOCMA (Grant et al. 1980).

1.1.4.3.1 Action sur les cellules immunitaires

Suite à l'infection, une atrophie du thymus peut survenir, ainsi qu'une régression des zones para-corticales des nœuds lymphatiques. Les lymphopénies et neutropénies sont fréquentes, et peuvent s'accompagner d'une diminution des fonctions de chimiotactisme et de phagocytose des neutrophiles (Hartmann 2011).

La lymphopénie peut suivre différents profils selon les individus. Dans la plupart des cas, la cytométrie de flux montre une atteinte des lymphocytes CD4⁺ (auxiliaires) et CD8⁺

(cytotoxiques) dans les mêmes proportions (Tompkins et al. 1991). Toutefois, une perte préférentielle de lymphocytes auxiliaires est parfois observée, avec pour résultat un rapport CD4/CD8 inversé, à l'instar de celui observé dans l'infection par le FIV (Hoffmann-Fezer 1996).

En 2007, une étude de Pépin et al. met en évidence une différence significative de la charge en ARN viral entre les animaux séropositifs (protéine p27) et non séropositifs (Figure 8).

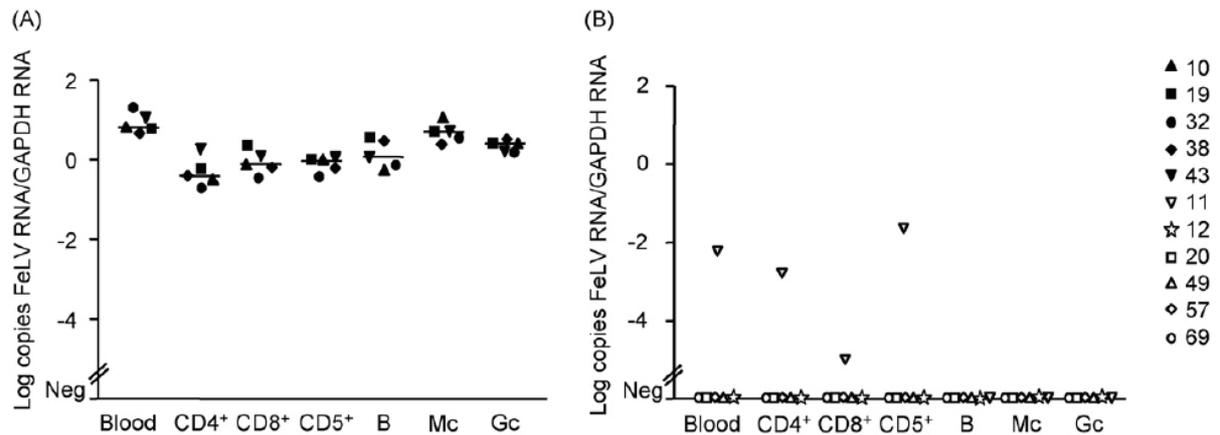


Figure 8. Taux d'ARN viral de FeLV (sang total sur EDTA) dans différents sous-groupes de leucocytes chez des chats p27-positifs (A) et p27-négatif (B). Blood: sang, Mc: monocytes, Gc: granulocytes. Les pictogrammes correspondent aux différents chats. D'après Pepin et al. 2007

Les chats p27-positifs présentent des charges en ARN viral plus élevées dans tous les sous-types de cellules immunitaires. A l'inverse, les chats p27-négatifs présentent des taux d'ARN moins élevés, avec une charge particulièrement faible dans les lymphocytes T cytotoxiques (Pépin et al. 2007).

De plus, des syndromes d'immunodéficience sont décrits suite à l'infection par un variant muté non intégré au génome (Overbaugh et al. 1988). Ces variants immunosuppresseurs, tels que le FeLV-T décrit précédemment, se fixent sur les lymphocytes T grâce à une protéine transmembranaire (Pit1) et un cofacteur protéique (FeLIX) similaire à la protéine de liaison du FeLV-B (Lauring et al. 2002).

1.1.4.3.2 Actions sur les médiateurs de l'immunité

Les chats infectés par le FeLV présentent de nombreuses anomalies de la fonction immunitaire : réponse diminuée des lymphocytes T aux agents mitogènes, réaction d'allogreffe prolongée, production d'immunoglobulines réduite, affaiblissement de la fonction des neutrophiles et du complément, ou encore diminution de la synthèse d'interleukines 2 et 4

(Linenberger, Deng 1999; Levy, Crawford 2000). Toutefois, le FeLV ne semble pas inhiber la production d'interleukine 1 dans les macrophages infectés. Une augmentation de la synthèse de TNF-bêta est constatée dans le sérum de chats infectés et sur les cultures cellulaires infectées.

Chaque cytokine jouant un rôle vital dans l'établissement d'une réponse immunitaire appropriée, la production excessive de l'une d'elles peut être à l'origine de maladies. Les LTA des chats infectés par le FeLV produisent une quantité moins importante de facteurs stimulants pour les lymphocytes B que les chats sains. Ce défaut de production semble s'aggraver avec le temps (Diehl, Hoover 1992). En revanche, la fonction des lymphocytes B de chats infectés est maintenue lorsqu'ils sont stimulés *in vitro* par des LTA non infectés (Hartmann 2011).

1.1.4.3.3 Interaction avec la vaccination

Les études de vaccination sur des chats infectés par le FeLV révèlent une réponse immunitaire insuffisante lors de vaccinations telles que la rage. Par conséquent, la protection vaccinale chez un chat infecté par le FeLV doit être considérée comme incomplète et des rappels plus fréquents (tous les 6 mois par exemple) doivent être envisagés. Les vaccins inactivés sont généralement recommandés, afin de prémunir les chats immunodéprimés d'un regain pathogénique potentiel (Lutz et al. 2009).

1.1.4.4 Protection vaccinale

Les travaux de Hoover en 1977 montrent une immunisation passive protectrice suite au transfert d'anticorps anti-FeLV maternels sur des chatons de 2 semaines (Hoover et al. 1977). Toutefois, le transfert d'anticorps neutralisants monoclonaux anti-FeLV n'est pas suffisant pour empêcher l'infection par le virus (Weijer et al. 1986).

Le premier vaccin commercial contre le FeLV est introduit aux Etats-Unis en 1984. Sa formulation contenait des sous-unités du FeLV obtenues par concentration de cultures tissulaires contenant des antigènes de tumeurs induites par le FeLV (Lewis, Mathes, Olsen 1981). Aujourd'hui, plusieurs vaccins FeLV sont disponibles en Europe, dont certains sont obtenus par recombinaison d'ADN viral.

Avant leur mise sur le marché, l'efficacité des vaccins FeLV passe généralement par le test de paramètres conventionnels tels que l'isolement viral et la détection d'antigènes du FeLV. En 2001, les travaux de Hofmann-Lehmann et al. mettent en évidence par PCR la présence de provirus chez des chats exposés au FeLV, non virémiques et correctement protégés contre la leucose (Hofmann-Lehmann et al. 2001).

Ces résultats amènent à l'hypothèse que même les vaccins FeLV efficaces utilisés habituellement n'empêcheraient pas une réplication à bas bruit chez les chats suite à l'exposition. En 2006, la même équipe évalue par RT-PCR quantitative les taux plasmatiques d'ARN viral dans le plasma de chats vaccinés. L'étude teste des vaccins utilisés en pratique courante, déclarés efficaces d'après les paramètres conventionnels. Deux types de vaccins sont utilisés : un vaccin virus entier inactivé et adjuvé, et un vaccin recombinant vectorisé avec un canarypoxvirus. Au cours de l'étude, la totalité des 20 chats vaccinés deviennent positifs pour l'ARN du FeLV, quel que soit le vaccin utilisé. Les vaccins commerciaux ne confèrent donc pas d'immunité stérilisante face au virus.

Chez les chats vaccinés avec un vaccin inactivé adjuvé, une stimulation majeure de l'immunité à médiation humorale est observée suite à l'exposition virale. En effet, les niveaux d'anticorps spécifiques du FeLV apparaissent plus élevés suite à ce protocole vaccinal. Toutefois, il semble que les anticorps neutralisants ne se développent pas suite à la vaccination, mais suite à l'exposition qui suit. Ceci appuie le rôle de la réplication virale à bas bruit dans la présentation du FeLV au système immunitaire.

Chez les chats immunisés avec le vaccin recombinant canarypox, une protection significative contre la virémie est constatée, en l'absence d'anticorps neutralisants. Ceci indique que la réponse immunitaire à médiation cellulaire joue aussi un rôle important dans la protection vaccinale des chats.

Si les vaccins FeLV actuels n'empêchent pas la réplication du virus chez les chats exposés, ils permettent de prévenir l'infection persistante. Or, cette dernière a une importance majeure du point de vue clinique : les chats capables de contrôler l'infection restent plus longtemps en bonne santé et ont une médiane de survie significativement supérieure aux chats infectés persistants (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

Aussi, même si le vaccin FeLV n'est pas considéré comme un vaccin de base par l'European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD), il fait partie des valences recommandées pour les chats à risque. En revanche, si la vaccination confère une bonne protection individuelle contre le virus, l'ABCD ne recommande pas cette méthode comme seule protection des chats FeLV-négatifs vivant dans le même foyer que des chats FeLV positifs (Lutz et al. 2009).

Enfin, les informations apportées récemment par des méthodes de biologie moléculaire plus sensibles et spécifiques, telles que la PCR TaqMan ou la RT-PCR, conduit à recommander leur utilisation dans l'évaluation de l'efficacité des vaccins FeLV (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

1.1.5 Particularités de la physiopathologie de l'infection

Le risque de développement d'une infection progressive fatale dépend du statut immunitaire et de l'âge du chat, mais aussi de la pression infectieuse de son environnement : les chats jeunes et immunodéprimés sont particulièrement à risque. Lors d'un premier contact avec un chat infecté porteur du virus, le risque de développer une infection progressive est d'environ 3 %. Ce risque est augmenté jusqu'à 30 % lorsqu'un chat infecté est introduit au sein d'un groupe d'animaux naïfs, et que les chats sont maintenus en communauté pour une longue période (Hartmann 2012).

1.1.5.1 Maladies associées à l'infection persistante

En dépit de son nom, la plupart des chats infectés par le Virus Leucémogène Félin ne sont pas présentés chez le vétérinaire pour des tumeurs, mais pour une anémie ou une immunosuppression (Hartmann 2011). Les mécanismes expliquant les diverses formes cliniques sont mal connus, mais semblent combiner des facteurs viraux et individuels.

1.1.5.1.1 Atteinte non maligne de la moelle osseuse

La colonisation des cellules de la moelle hématopoïétique par le virus peut entraîner des cytopénies majeures. Les désordres hématologiques couramment décrits en association avec le FeLV sont : une anémie (régénérative ou non), une neutropénie persistante, transitoire ou cyclique, des anomalies de la lignée plaquettaire (thrombopénie ou déficits fonctionnels) et une aplasie médullaire. Ces désordres sont associés à des effets cytopathiques directs du virus sur les précurseurs des cellules sanguines, ou encore un arrêt de leur maturation. Des mécanismes à médiation immune pourraient aussi être mis en cause dans les cas de neutropénies résolues suite à l'administration de corticoïdes (Hartmann 2011).

Des cas de syndromes *panleukopenia-like* sont décrits : des chats FeLV-positifs et négatifs pour les tests antigéniques de la panleucopénie féline présentaient des leucopénies sévères associées à une entérite sévère. Ces formes cliniques pourraient être causées par des co-infections avec le FeLV et le virus de la panleucopénie féline (Kipar et al. 2001).

La réplication active du virus est requise pour la plupart de ces mécanismes pathogéniques. Toutefois, en 2010, Stütser et al. mettent en évidence deux cas d'infections régressives chez des

chats présentés pour myélosuppression. Ces chats étaient négatifs pour l'antigène p27, mais leur moelle osseuse était positive à la PCR détectant le gène *env* (Stützer et al. 2010). Ceci laisse supposer que le provirus intégré aux cellules hématopoïétiques pourrait interagir avec leur fonction, sans nécessiter une phase de réplication.

1.1.5.1.2 Néoplasie

1.1.5.1.2.1 Désordres myéloprolifératifs

La transformation des cellules de la moelle osseuse par le FeLV peut entraîner un syndrome myélodysplasique caractérisé par des cytopénies variées dans le sang périphérique : anémies, leucopénies ou thrombopénies. Ce syndrome précède généralement le déclenchement d'une leucémie aigüe myéloïde. L'étude du génome des variants du FeLV associés au syndrome myélodysplasique a montré une forte association entre le déclenchement de désordres myéloprolifératifs et la répétition d'une séquence « promoteur » au sein des LTR du virus (Hisasue et al. 2009).

La moelle osseuse, activée de manière chronique en cas de prolifération néoplasique, peut subir une fibrose. Dans les cas sévères, cette fibrose peut entraîner une oblitération de la cavité médullaire de l'endoste.

Les tumeurs hématopoïétiques le plus souvent associées au FeLV sont les leucémies et les lymphomes. Le mécanisme principal de cette oncogenèse est l'insertion du génome viral à proximité d'un oncogène du génome cellulaire (le plus souvent le locus *myc*), entraînant la surexpression de ce dernier (Tsatsanis et al. 1994). La conséquence est une prolifération incontrôlée de clones de la cellule transformée, avec une tumorigénèse en l'absence de réponse immunitaire appropriée. La recombinaison du FeLV-A au sein du génome cellulaire peut aussi entraîner la création de nouveaux variants oncogènes tels que le FeLV-B.

L'association entre le FeLV et l'apparition de lymphomes a été établie par le déclenchement de ces cancers chez des chats infectés expérimentalement et la mise en évidence d'un risque accru de développement de lymphome chez les chats infectés. Toutefois, si la plupart des lymphomes et leucémies félines étaient initialement imputés au FeLV, la diminution drastique de sa prévalence depuis les années 1980 indique un changement dans les affections à l'origine de ces maladies (Hartmann 2015). En 2011, une étude menée en Allemagne sur 77 chats atteints de lymphomes a détecté le virus dans la moelle osseuse ou les tissus tumoraux chez seulement 20,8% des chats. En outre, il apparaît que les lymphomes chez les chats antigène-positifs sont

le plus souvent de type B, alors que les lymphomes T interviennent plutôt chez les chats antigène-négatifs (Stützer et al. 2011).

1.1.5.1.2.2 Autres tumeurs

Outre les lymphomes et leucémies, des cas de fibrosarcomes ont été associés à l'infection par le FeLV. Plus précisément, il semblerait qu'un autre virus, le FeSV, se développe *de novo* chez les chats infectés par le FeLV par recombinaison avec les oncogènes cellulaires (Besmer et al. 1983). Ces fibrosarcomes tendent à grossir rapidement voire à métastaser chez les jeunes chats, principalement au niveau des poumons (Pedersen, Johnson, Theilen 1984). Ils sont à différencier des fibrosarcomes uniques associés aux sites d'injections.

Des ostéochondromes multiples sont aussi décrits chez les chats infectés par le FeLV. En dépit de leur caractère bénin, ces tumeurs peuvent être de mauvais pronostic si elles touchent les vertèbres et occasionnent une compression de la moelle osseuse (Pool, Carrig 1972). L'implication du FeLV est aussi suspectée dans des cas d'hyperplasies bénignes des kératinocytes, ou de neuroblastomes, sans que son rôle précis puisse être déterminé.

1.1.5.1.3 Atteinte du système immunitaire

Comme vu précédemment, l'immunosuppression causée par le FeLV s'exprime à la fois par un affaiblissement des populations lymphocytaires et une modulation des médiateurs de l'immunité. Qu'ils présentent ou non des signes cliniques caractéristiques du virus, tous les chats virémiques présentent une modification de leur fonction immunitaire, avec une réponse diminuée ou retardée.

L'affaiblissement du système immunitaire peut avoir plusieurs conséquences cliniques et favoriser l'infection par des pathogènes opportunistes tels que *Salmonella spp* ou *Toxoplasma gondii*. En outre, il peut conduire à l'exacerbation des signes cliniques causés par d'autres agents infectieux, tels que les poxvirus, *Mycoplasma haemofelis* et *Cryptococcus*. De même, certains troubles tels que les rhinites chroniques ou les abcès sous-cutanés seraient susceptibles de se résoudre plus lentement chez les chats infectés par le FeLV, avec des cas de rechutes imprévues (Lutz, Möstl 2015). L'infection par le FeLV pourrait aussi prédisposer les animaux à développer des maladies chroniques telles que la parodontite (Tenorio et al. 1991).

Outre l'immunosuppression, les chats infectés par le FeLV peuvent développer des maladies à médiation immune, conséquences d'une réponse mal régulée face au virus. En particulier, l'affaiblissement des lymphocytes T et la formation d'immuns complexes favorisent la

dérégulation immunitaire. Les chats présentant ces troubles peuvent déclarer des anémies hémolytiques à médiation immune (Kohn et al. 2006), des glomérulonéphrites (Glick, Horn, Holscher 1978) ou des hémorragies rétinienne (Stiles 2014).

1.1.5.1.4 Troubles neurologiques et de la reproduction

Dans la plupart des cas, les signes neurologiques associés au FeLV peuvent être reliés à la présence de lymphomes ou d'infiltrations lymphomateuses du cerveau ou des tissus nerveux, à l'origine de compressions. Chez certains animaux, aucune lésion compressive n'est mise en évidence à l'imagerie médicale ou lors de la nécropsie, ce qui fait suspecter une neurotoxicité associée au FeLV.

En particulier, des présentations telles que l'anisocorie, la mydriase, l'amaurose ou des Syndromes de Horner ont été décrits chez des chats en l'absence de lésions. Le mécanisme suspecté de cette neurotoxicité serait la production de calcium libre intracellulaire par la glycoprotéine d'enveloppe du FeLV gp70, à l'origine de la mort neuronale (Mitchell et al. 1997).

D'autres signes neurologiques tels que des vocalisations anormales, de l'hyperesthésie et une parésie progressive ou de l'incontinence urinaire sont décrits chez des chats infectés de façon persistante par le FeLV. Microscopiquement, une dégénérescence de la matière blanche avec dilatation des gaines de myélines et une turgescence des axones est observée. Le marquage immunohistochimique a révélé la présence d'antigène p27 dans les tissus lésés, ce qui fait suspecter la possibilité d'un effet cytopathique direct du FeLV sur le système nerveux central (Carmichael, Bienzle, McDonnell 2002).

Chez les femelles gestantes, l'infection par le FeLV peut provoquer des résorptions fœtales, des avortements ou des morts néonatales. Les avortements semblent se produire en fin de gestation et peuvent s'accompagner d'endométrite bactérienne. Chez certains chatons nés de femelles infectées, une infection progressive se développe. Ces chatons présentent incapacité à se nourrir, déshydratation, hypothermie, atrophie thymique. Ils meurent généralement dans les deux semaines suivant la naissance (Hartmann 2012).

1.1.5.2 Diversité des souches

En fonction du sous-groupe (A B, C ou T) auquel ils appartiennent, les isolats du FeLV présentent différents schémas d'interférences avec les cellules infectées. L'étude de chats infectés en conditions naturelles révèle que le FeLV-A est présent chez tous les chats infectés.

Le FeLV-B est aussi fréquemment rencontré, en association avec le FeLV-A. En revanche, le sous-groupe C est plus rare et systématiquement associé au sous-groupe A ou B (Jarrett et al. 1978).

Il apparaît que le génome reste bien conservé entre les isolats du FeLV-A. La conséquence de cette conservation est une grande stabilité antigénique de la protéine de surface gp70, qui permet des réactions croisées des anticorps neutralisants sur les différents isolats. A l'inverse, les isolats du FeLV-B et C présentent une grande hétérogénéité d'antigènes et d'anticorps neutralisants, ils ont donc peu d'intérêt pour la conception d'un vaccin (Donahue et al. 1988 ; Russell, Jarrett 1978). Les essais d'interférence entre les différents sous-groupes ont permis de mieux comprendre leur rôle dans l'apparition de la Leucose Féline. Ainsi, il apparaît que le FeLV-A est non seulement le sous-type le plus fréquemment rencontré, mais qu'il est responsable de la transmission entre animaux. Ainsi, la vaccination contre le seul sous-groupe A apparaît suffisante pour induire une immunité contre l'infection par le FeLV (Willett, Hosie 2013).

Les différents sous-groupes ont des pathogénicités variables : FeLV-A apparaît moins pathogénique car il est plus long à entraîner des signes cliniques, mais c'est le sous-groupe le plus souvent associé aux infections latentes. Il est présent chez 100% des chats infectés et hautement contagieux (Hartmann 2012). Toutefois, si certains isolats des sous-groupes B et C apparaissent particulièrement pathogènes, il semblerait que la structure altérée de la gp70 restreigne leur tropisme cellulaire, et empêche une réplication à grande échelle. La présence de FeLV-A et sa fusion avec les autres sous-groupes autorise l'infection productive dans des cellules normalement non disponibles pour le FeLV B ou C. A cause de leur dépendance au FeLV-A, et de l'origine des sous-groupes B et C, il est suspecté que la plupart des isolats apparaissent *de novo* chez des chats préalablement porteurs du FeLV-A, dans le cadre d'une virémie persistante (Sparkes 1997). La transmission horizontale de FeLV-B et C est théoriquement possible, mais n'a pas été décrite en conditions naturelles. En conditions expérimentales, il semblerait que cette transmission nécessite une co-infection par FeLV-A pour autoriser la réplication des virus (Sparkes 1997).

De plus, les maladies associées aux différents sous-groupes sont variables. Si le FeLV-A peut être associé à de nombreuses formes cliniques, le FeLV-B sera plus fréquemment associé à des désordres myéloprolifératifs, et le FeLV-C à des anémies non régénératives ou des leucémies aigües myéloïdes (Hartmann 2012).

L'infection par le FeLV-T, spécifique des lymphocytes T, nécessite la présence d'un récepteur cellulaire *Pit 1*, aussi utilisé par le FeLV-B, et d'un cofacteur cellulaire appelé FeLIX. Ce cofacteur est synthétisé à partir de séquences communes au FeLV endogène et au FeLV-B. Ces deux virus pourraient ainsi potentialiser l'infection des lymphocytes T par le FeLV-T lors d'infections chroniques (Lauring et al. 2002; Anderson et al. 2000).

Au vu de la fréquence des coïnfections dans les formes cliniques, il apparaît important d'intégrer ces différents sous-groupes dans le test de l'efficacité des vaccins. Toutefois, les similitudes génétiques entre les sous-groupes du FeLV permettent une protection vaccinale croisée entre eux.

1.1.5.3 Variabilité de réponse en fonction de l'âge

La sensibilité des chats à l'infection persistante est plus forte chez les jeunes chatons. Une étude menée dans un foyer abritant plusieurs chats infectés persistants par le FeLV a montré que seuls 3 adultes séronégatifs sur 17 (17 %) étaient devenus séropositifs au cours des 7 ans de l'étude, alors que sur 10 chatons de 4 mois intégrés à l'étude, 7 (70 %) étaient devenus séropositifs au bout de 5 mois. Ces chatons étaient tous morts dans les deux années suivant leur entrée dans l'étude, alors que le dernier adulte virémique est mort 7 ans après la découverte de sa séropositivité (Cotter 1991).

Les essais d'inoculation du virus sur des animaux d'âges différents ont montré qu'en conditions expérimentales, la sensibilité des chats à l'infection diminue avec l'âge. En outre, parmi le groupe le plus âgé (de 4 mois à 1 an), 85 % des chats développent une immunité sans qu'une virémie soit détectable suite à l'infection (Hoover et al. 1976).

Cette variabilité importante peut être reliée aux particularités de la réponse immunitaire à l'infection par le FeLV vues précédemment : tout d'abord l'opportunité de développer des anticorps séro-neutralisants, mais aussi la maturation des macrophages (Hartmann 2012). En effet, l'augmentation de l'immunocompétence avec l'âge est habituellement le reflet de l'acquisition par les macrophages de fonctions antivirales, antitumorales et antigéniques.

1.2 Vaccins contre la leucose disponibles en 2015

Les vaccins contre la leucose féline sont développés depuis de nombreuses années et leur usage est aujourd'hui généralisé dans les cliniques vétérinaires. Des revues bibliographiques compilant les efficacités comparées des différentes spécialités ont été réalisées au début des années 2000 (Sparkes 1997, 2003). Si la majorité de ces vaccins sont des glycoprotéines d'enveloppe (gp 70) inactivées produites sur culture cellulaire (Leukocell® 2, Fevaxyn® ou Versifel® FeLV), d'autres sont produits par recombinaison de protéines de surface (Leucogen®). Plus récemment, un vaccin vivant vectorisé avec un canarypoxvirus exprimant des gènes du FeLV a été développé (Purevax® FeLV) ; c'est à ce jour le seul vaccin vivant non adjuvé disponible. Les compositions respectives de ces vaccins sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2. Vaccins FeLV disponibles en France en 2015

Nom commercial	Laboratoire (Année d'AMM)	Type Antigène	Adjuvants	Durée immunité post-rappel
Leukocell® 2	Zoetis® (1990)	Inactivé Glycoprotéine 70 <i>FeLV A, B et C</i>	Quil A Hydroxyde d'Al	1 an
Fevaxyn® Pentofel	Zoetis® (1997)	Inactivé Vaccin entier <i>FeLV A et B</i>	EMA 31 Neocryl A640	1 an
Purevax® FeLV	Merial® (2000)	Vectorisé Canaripox/gènes <i>env et gag</i> <i>FeLV A</i>	Aucun	1 an
Leucogen®	Virbac® (2009)	Sous-unité Protéine p45 <i>FeLV A</i>	Hydroxyde d'Al Quil A	1 an
Versifel® FeLV	Zoetis® (2012)	Inactivé Glycoprotéine 70 <i>FeLV A, B et C</i>	Quil A, DDA, cholestérol	3 ans

Le nom donné à ces vaccins varie selon le pays de commercialisation et la date, par exemple le vaccin Purevax® FeLV était anciennement appelé Eurifel®. De même, le vaccin Leucogen® de Virbac est aussi distribué par Mallinckrodt sous le nom de Genetivac®, et par Intervet sous le nom de Nobivac® FeLV (Sparkes 1997).

1.2.1 Offre vaccinale en France

1.2.1.1 Inactivés

A l'instar d'autres agents pathogènes félines (virus de la panleucopénie féline, herpèsvirus-1, calicivirus, rage, *Chlamydomphila* etc.), le FeLV peut être complètement inactivé, ce qui permet d'éliminer complètement le risque de réplication post-inoculation et de retour à un état de virulence. Pour cette raison, les vaccins inactivés ont longtemps été considérés comme les moins dangereux. Toutefois, l'ajout de plusieurs ingrédients tels que les conservateurs, antibiotiques, adjuvants et excipients protéiques a été associé à l'apparition d'effets secondaires immédiats ou retardés chez les chats (Scherk et al. 2013).

1.2.1.1.1 Leukocell® 2 (Zoetis®) - 1990

Ce vaccin contient l'antigène d'enveloppe gp70 du FeLV à une dose minimale de 1,334 µg/ml. Il est produit à partir d'une lignée cellulaire féline (lignée FL14) infectée de façon permanente par la souche Kawakami-Theilen du virus FeLV, et induit une immunisation active chez les chats sains contre les sous-groupes A, B et C du virus FeLV.

Il contient également des antigènes de membrane d'oncornavirus félines (FOCMA) qui sont réputés conférer une protection immunitaire contre le développement de sarcomes associés au FeLV.

Il est adjuvé avec de l'hydroxyde d'aluminium (Alhydrogel® 2%) et une saponine (Quil A®). Son utilisation est recommandée chez les chatons à partir de 9 semaines.

1.2.1.1.2 Fevaxyn® Pentofel (Zoetis®) - 1997

Ce vaccin contient une souche inactivée du FeLV (61 E). Il stimule le développement d'une immunité active contre le virus de la panleucopénie féline, l'herpèsvirus de la rhinotrachéite féline, le calicivirus félin, la *Chlamydomphila felis* et le virus de la leucose féline.

Il est adjuvé avec de l'anhydride maléique d'éthylène (EMA31), un polymère acrylique (NeoCryl® A-640) et de l'Emulsigen SA. Son utilisation est recommandée chez les chatons à partir de 9 semaines. La vaccination des chattes gravides n'a pas été étudiée.

1.2.1.1.3 Versifel® FeLV (Zoetis®) - 2012

A l'instar de l'autre vaccin FeLV commercialisé par Zoetis®, le Versifel® FeLV contient une forme inactivée du FeLV, souche Kawakami-Theilen présentant l'antigène d'enveloppe gp70. Il induit une immunisation active chez les chats sains contre les sous-groupes A, B et C

du virus FeLV permettant de réduire les cas de virémie persistante et les signes cliniques de la maladie. Aucune donnée n'est disponible dans les études pour démontrer la protection contre la maladie clinique associée. La mise en place de l'immunité a lieu 4 semaines après la fin de la primo-vaccination. L'immunité dure 1 an après primo-vaccination. L'étude de Wilson en 2012 a montré une absence d'antigénémie chez les chats vaccinés jusqu'à 3 ans suite aux rappels (Wilson et al. 2012).

Il peut être mélangé avec les vaccins de la marque Zoetis®. Ses adjuvants diffèrent néanmoins, puisque du cholestérol, du bromure de diméthyl-dioctadécyl ammonium et des carbomères sont utilisés avec le Quil A. Il peut être utilisé à partir de 9 semaines d'âge.

1.2.1.2 Recombinants

Certaines parties de la séquence génétique du FeLV ont pu être isolées. Ces séquences peuvent être recombinées avec l'ADN d'un virus vivant non pathogène, comme le canarypoxvirus (non pathogènes pour les mammifères), et administrées comme un vaccin vectorisé. L'information génétique peut aussi être insérée dans des plasmides bactériens, ce qui permet la production d'antigènes *in vitro* (comme la protéine d'enveloppe p45). Ces antigènes sont ensuite isolés et purifiés pour être incorporés à un vaccin dit « sous-unité » (Scherk et al. 2013).

1.2.1.2.1 Vectorisé : Purevax® FeLV (Merial) - 2000

Ce vaccin est constitué d'un virus canarypox recombiné (vCP97) exprimant les gènes *env* et *gag* du FeLV-A à une dose minimale de $10^{7.2}$ fois la dose infectante pour 50% de la culture cellulaire. Il induit une protection totale contre les sous-groupes A, B et C. Après inoculation, le virus canarypox exprime les protéines protectrices, mais sans se répliquer chez le chat. Il est indiqué pour l'immunisation active contre la leucose féline et la prévention d'une virémie persistante et des signes cliniques de la maladie associée. La mise en place de l'immunité a lieu 2 semaines suite à la primovaccination, elle dure 1 an après la dernière injection. Il peut être utilisé chez le chaton à partir de 8 semaines. Son usage est interdit chez les femelles gestantes ou en lactation.

Il peut être mélangé avec les vaccins non adjuvés de la marque, mais son injection doit être séparée des vaccins adjuvés (associations variées de rhinotrachéite féline, calicivirose, panleucopénie et rage). Purevax® FeLV est disponible en formulation multivalente (Purevax® RCP FeLV ou RCP Ch FeLV).

1.2.1.2.2 Sous-unité : Leucogen® (Virbac®) - 2009

Ce vaccin contient l'antigène purifié p45 de l'enveloppe du FeLV à une dose minimale de 102 µg/ml, obtenu par recombinaison génétique de la souche d'E. Coli. Il est indiqué pour la prévention d'une virémie persistante et des signes cliniques de la maladie associée au FeLV.

La mise en place de l'immunité a lieu 3 semaines suite à la primovaccination, elle dure 1 an après la dernière injection.

Il est adjuvé avec un gel d'hydroxyde d'aluminium à 3% et un extrait purifié de *Quillaja saponaria*. Son utilisation est recommandée à partir de 8 semaines chez les chatons. Leucogen® est disponible en formulation multivalente (Leucofeligen® RCP FeLV).

1.2.2 Protocoles vaccinaux : recommandations

Dans ses recommandations (Lutz et al. 2009), l'ABCD conseille d'intégrer le vaccin FeLV à la vaccination de routine de la plupart des chats. En effet, les vaccins actuellement disponibles fournissent une protection efficace contre les formes cliniques de l'infection. Ces formes étant pour la plupart mortelles, le bénéfice de la vaccination compense les risques d'effets secondaires.

La vaccination n'est pas requise en l'absence d'exposition possible au FeLV, de par le mode de vie de l'animal ou la prévalence du virus dans la zone concernée. Des changements peuvent toutefois survenir au cours de la vie du chat et des propriétaires ; ils doivent donc être considérés lors de la primo-vaccination du chaton.

En outre, en raison de la sensibilité accrue des jeunes animaux au FeLV, le Feline Vaccination Advisory Panel of the American Association of Feline Practitioners (AAFP) recommande de vacciner tous les chats d'un an ou moins contre le FeLV, avec un rappel à un an. Par la suite, le besoin de rappels sera déterminé par les facteurs de risques auxquels le chat est exposé (Scherk et al. 2013).

La primo-vaccination consiste en deux injections : la première peut être réalisée à partir de 8 ou 9 semaines d'âge, la deuxième 3 à 4 semaines plus tard, après l'âge de 12 semaines. Cette primo-vaccination peut être réalisée en même temps que les valences de base, en une ou deux injections selon les indications du laboratoire.

Afin de limiter les échecs vaccinaux, les chats dont le statut FeLV est inconnu doivent être testés préalablement à la primo-vaccination s'ils présentent un risque d'exposition au virus : chatons avec des parents de statut inconnu, accès à l'extérieur. En effet, la vaccination n'a aucune efficacité si elle est réalisée après l'infection, même en l'absence de signes cliniques.

Seul le vaccin Versifel® FeLV est documenté avec une durée d'immunité supérieure à 1 an suite à la primo-vaccination (Wilson et al. 2012). Cependant, au vu de la faible sensibilité des chats adultes à l'infection par le FeLV, l'ABCD suggère qu'un rappel tous les 2 à 3 ans serait suffisant pour des chats de plus de 3 ou 4 ans en bonne santé.

2 Evaluation de l'efficacité des vaccins Leucose

Un vaccin idéal contre le FeLV fournirait une protection contre les formes de virémie progressive et régressive. Il permettrait ainsi la protection contre l'infection latente et le développement des maladies associées au FeLV.

La plupart des études sur la vaccination et la pathogénie du virus a été réalisée avant le développement de techniques de diagnostic sensibles et spécifiques. Les techniques de biologies moléculaires telles que la qPCR ont permis d'établir que les vaccins actuellement commercialisés ne confèrent pas d'immunité stérilisante face au virus (Hofmann-Lehmann et al. 2006). Aussi, des études plus récentes proposent aujourd'hui d'évaluer la réponse vaccinale avec les méthodes de diagnostic moléculaire (Hofmann-Lehmann et al. 2007).

En dépit de ce constat, la vaccination permet de protéger les animaux contre l'infection progressive par le virus, à l'origine de manifestations cliniques graves, qu'elles soient néoplasiques, hématopoïétiques, immunitaires ou nerveuses. En raison de ces spécificités, il convient de définir l'efficacité attendue pour un vaccin FeLV.

2.1 Définition de l'efficacité vaccinale

L'efficacité vaccinale contre le FeLV peut se définir comme la capacité à prévenir une virémie persistante chez les animaux vaccinés. Un animal virémique au-delà de 16 semaines est considéré comme infecté de manière persistante (Hartmann 2012). La Pharmacopée Européenne définit l'infection persistante comme un chat qui présente une virémie ou une antigénémie positive pour l'antigène p27 pendant 3 semaines consécutives, ou à 5 occasions entre la troisième et la quinzième semaine après l'exposition au FeLV (Pharmacopée Européenne 8.0 2013).

La Pharmacopée impose en outre un minimum de 80% d'animaux infectés dans le groupe témoin, et un maximum de 20% d'animaux infectés dans le groupe vacciné pour valider les essais vaccinaux. Ceci rend parfois difficile la démonstration d'une efficacité à long terme du vaccin en raison de la plus grande résistance au virus observée chez les adultes (Wilson et al. 2012).

Dans une étude rétrospective de 1997, Sparkes souligne l'importance du concept de fraction préventive (FP) lorsqu'on évalue l'efficacité des vaccins FeLV. Ce calcul prend en compte le fait que les chats témoins non vaccinés ne développent pas une virémie persistante dans 100% des cas. Ainsi, la fraction préventive est conçue pour donner une valeur plus pertinente de l'efficacité vaccinale que la simple proportion de chats vaccinés protégés contre la virémie persistante. Elle est définie comme la proportion de chats protégés par la vaccination en plus de la résistance naturelle au virus, et est calculée de la façon suivante (Sparkes 1997) :

$$FP (\%) = \frac{\% \text{ chats non vaccinés avec VP} - \% \text{ chats vaccinés avec VP}}{\% \text{ chats non vaccinés avec VP}} \times 100$$

VP : virémie persistante

Par exemple, dans une étude comparative de Patel et al. évaluant l'efficacité du vaccin Purevax® FeLV, une virémie persistante était retrouvée chez 5/10 (50 %) animaux vaccinés et 10/11 (90 %) animaux témoins, ce qui donne :

$$FP (\%) = \frac{90\% - 50\%}{90\%} \times 100 = 45,5\%$$

Les différences significatives de fréquence entre les groupes témoins et vaccinés peuvent être calculées avec le test exact de Fisher (Hofmann-Lehmann et al. 2007). Ce test permet d'obtenir, pour de petits effectifs, une valeur p, qui est la probabilité d'obtenir la même valeur si les données observées étaient indépendantes les unes des autres. Généralement, on affirme une différence significative entre les groupes lorsque la valeur de p est inférieure à 5% ($p < 0,05$).

Si le calcul de la fraction préventive apparaît primordial dans l'évaluation de l'efficacité vaccinale, elle doit être interprétée en tenant compte du nombre d'animaux inclus dans l'étude, et du nombre d'animaux témoins développant une virémie persistante. En effet, la Fraction Préventive sera de 100 % quel que soit le nombre de témoins infectés, pourvu qu'il n'y ait aucun infecté parmi les vaccinés.

De plus, les différences importantes dans la réponse immunitaire des chats infectés selon leur âge et le niveau de leur immunité doivent être prises en compte dans les essais vaccinaux : la durée des études, l'âge des animaux et les conditions d'exposition au virus peuvent fortement influencer les résultats.

2.2 Comparaison des études d'efficacité pour les vaccins actuels

En 1997, une revue bibliographique d'Andy H. Sparkes regroupe les 16 principales études réalisées sur les vaccins disponibles en Grande-Bretagne, afin d'avoir un aperçu de l'efficacité respective de ces vaccins (Tableau 3). Il constate que la comparaison directe des résultats entre les études est rendue très difficile par les variations de conditions expérimentales

Tableau 3. Détails des études sur les vaccins FeLV disponibles dans le commerce en Grande-Bretagne, par Sparkes, 1997

Etude	Chats utilisés		Virus utilisé pour le challenge	Voie inoculation	Fréquence échantillonnage (post-challenge)	Définition de la virémie persistante
	Source	Age au challenge				
Haffer et al. 1990*	EOPS	17-25 semaines	FeLV-A/Rickard	ON (+IMS)	Toutes les 2 semaines pendant 12 semaines	Antigénémie présente la semaine 12, puis pendant au moins 6 semaines
Clark et al. 1991*	EOPS	16-19 semaines	FeLV-A/Glasgow	IP	Semaines 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 39, 52	Virémie présente la semaine 12 et plus tard
Hines et al. 1991*	EOPS	14-19 semaines	FeLV-A/Rickard	ON (+IMS)	Toutes les 2 semaines pendant 12 semaines	Antigénémie présente la semaine 12
Legendre et al. 1991*	EOPS	4 mois	FeLV-A/1161 FeLV-A/CT600 Isolats prélevés	Exposition naturelle	2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 23, 3	Antigénémie présente la semaine 31, et au moins pendant les 2 mois précédents
Lehmann et al. 1991*	EOPS	14-15 mois	FeLV-A/Glasgow	IP	1,2,3,4,6,8,10,12,16,20,24	Antigénémie persistante avant et durant la semaine 24
Pedersen and Jonhson 1991*	EOPS	15-28 semaines	FeLV-A/ CT600 FeLV-A/Rickard	ON (+IMS)	Non spécifié, suivi jusqu'à 16 semaines	Antigénémie présente pendant plus de 4 semaines, ou après la semaine 16
Pollock et Haffer 1991*	EOPS	Non spécifié	FeLV-A/Rickard	ON	Toutes les 2 semaines (durée non spécifiée)	Antigénémie présente après 8 semaines
Pollock et Haffer 1991*	EOPS	Non spécifié	FeLV-A/NCE	SC	Toutes les 2 semaines (durée non spécifiée)	Antigénémie présente après 8 semaines
Sebring et al. 1991*	Non spécifié	Non spécifié	Non spécifié	IP (+IMS)	Non spécifié	Non spécifié
Sebring et al. 1991*	Non spécifié	Non spécifié	Non spécifié	IP (+IMS)	Non spécifié	Non spécifié
Tizzard and Bass 1991*	EOPS	15 semaines	FeLV-A/Rickard	ON (+IMS)	Non spécifié	Non spécifié
York et York 1991*	Source rurale	16-18 semaines	FeLV-A/Rickard	ON et IM (+IMS)	Non spécifié	Antigénémie pendant 1 mois ou plus
Pedersen 1993	EOPS	9-10 mois	FeLV-A/CT600	ON (+IMS)	1, 2,3,4,5,6,8,10,12	Antigénémie présente à la semaine 12
Lafrado 1994*	EOPS	13 semaines	FeLV-A/Rickard	Exposition naturelle	Toutes les 2 semaines (26 semaines)	Antigénémie présente à la semaine 12 et au-delà
Jarret et Ganiere 1996*	EOPS	14 semaines	FeLV-A/Glasgow1	IP	Toutes les 3 semaines (12 semaines)	Antigénémie à la semaine 12 et depuis au moins 6 semaines
Jarret et Ganiere 1996*	EOPS	14 semaines	FeLV-A/Glasgow1 FeLV-B/Sarma FeLV-C/Sarma	ON	Toutes les 3 semaines (12 semaines)	Antigénémie à la semaine 12 et depuis au moins 6 semaines

* Etude financée par un laboratoire produisant des vaccins ; Challenge : exposition volontaire au virus suite à la vaccination, EOPS : chats exempts d'organismes pathogènes spécifiques, ON : voie oronasale, IP : voie intrapéritonéale, SC : voie sous-cutanée, IM : voie intramusculaire, IMS : avec immunosuppression induite par des corticoïdes au moment du challenge

En comparaison, on peut constater une homogénéisation importante des protocoles d'essais vaccinaux pour le FeLV dans les études ultérieures (Tableau 4).

Tableau 4. Conditions expérimentales comparées des 12 études sur l'efficacité des vaccins FeLV entre 1997 et 2015

Etude	Chats utilisés		Virus utilisé pour le challenge	Voie inoculation	Fréquence échantillonnage (post-challenge)	Définition de la virémie persistante
	Source	Age au challenge				
Patel et al. 2015	Non spécifié	6 mois	FeLV-A/61E	ON (+IMS)	1 fois/semaine, semaines 3 à 12	
Stuke et al. 2014	EOPS	3,5 mois	FeLV-A/61E	IP	1 fois/semaine, semaines 3 à 15	Antigénémie présente entre les semaines 3 et 12 :
Wilson et al. 2012	EOPS	$\frac{10 \text{ mois}}{23 \text{ mois}}$ 40 mois	FeLV-A/Glasgow	IP	1 fois/semaine, semaines 3 à 15	- pendant 3 semaines consécutives - ou sur 5 échantillons
Jirjis et al. 2010	EOPS	27 mois	FeLV-A/61E	ON	1 fois/semaine, semaines 3 à 12	
Torres et al. 2010	EOPS	8,5 mois	FeLV-A/61E	IP	1 fois/semaine semaines 1 à 8	Antigénémie présente à 3 occasions entre les semaines 3 et 8
Hoffmann-Lehmann et al. 2007	EOPS	10 mois	FeLV-A/Glasgow1	IP	Non spécifiée	Non spécifiée
Grosenbaugh et al. 2006	EOPS	4 mois	FeLV-A/61E	ON	1 fois/semaine semaines 3 à 8	Antigénémie présente sur 3 échantillons
Hofmann-Lehmann et al. 2006	EOPS	4,5 mois	FeLV-A/Glasgow1	IP	1 fois/semaine semaines 1 à 15 et semaine 17	Antigénémie présente entre les semaines 3 et 12 : - pendant 3 semaines consécutives - ou sur 5 échantillons
Torres et al. 2005	EOPS	5,5 – 9 mois	FeLV-A/61E	ON	Toutes les 2 semaines pendant 8 semaines	Non spécifié
Grosenbaugh et al. 2004	EOPS	4 mois	FeLV-A/61E	ON	1 fois/semaine à partir de la semaine 3**	Non spécifié
Poulet et al. 2003	EOPS	> 1 an	FeLV-A/Glasgow1	ON	1 fois/semaine semaines 3 à 15	Antigénémie présente : - pendant 3 semaines consécutives - ou sur 5 échantillons
					1 fois, semaines 3, 6, 9, 12,15	Antigénémie sur au moins 2 échantillons
Harbour et al. 2002	EOPS	13 mois	FeLV-A/Glasgow 1	ON (+/-IMS)	1 fois/semaine ou 1 fois toutes les 2 semaines	Antigénémie présente entre les semaines 3 et 15 : - pendant 3 semaines consécutives - ou sur 5 échantillons
Gueguen et al. 2000	EOPS	3,5 mois	FeLV-A/Glasgow 1	ON	1 fois/semaine semaines 3 à 15	Antigénémie présente entre les semaines 3 et 15 : - pendant 3 semaines consécutives - ou sur 5 échantillons

Challenge : exposition volontaire au virus suite à la vaccination, ** échantillonnage jusqu'à obtenir 80% d'antigénémie persistante chez les témoins, EOPS : chats exempts d'organismes pathogènes spécifiques, ON : voie oronasale, IP : intrapéritonéal, IMS : avec immunosuppression induite par des corticoïdes au moment du challenge

2.2.1 Animaux étudiés

2.2.1.1 Nombre

Les essais destinés à tester l'efficacité des vaccins FeLV se heurtent à la difficulté d'obtenir des échantillons de taille importante. Cet obstacle est d'autant plus important dans le cas des études à long terme (plus d'un an), pour lesquelles les animaux doivent être conservés en conditions contrôlées.

Lors des essais vaccinaux réalisés entre 1991 et 1994, on peut constater que certaines études affichent des effectifs importants (Sparkes 1997), jusqu'à 148 animaux vaccinés pour 81 témoins, comme montré dans la Figure 9. Les écarts significatifs obtenus entre les animaux vaccinés et témoins ont permis de réduire le nombre d'animaux nécessaire, si bien que la pharmacopée européenne recommande aujourd'hui l'utilisation de 25 chats au minimum : 15 vaccinés et 10 témoins (Pharmacopée Européenne 8.0 2013). En dépit de ces recommandations, seules deux études réalisées après 2000 respectent les effectifs minimaux : Harbour et al. (2002) et Wilson et al. (2012).

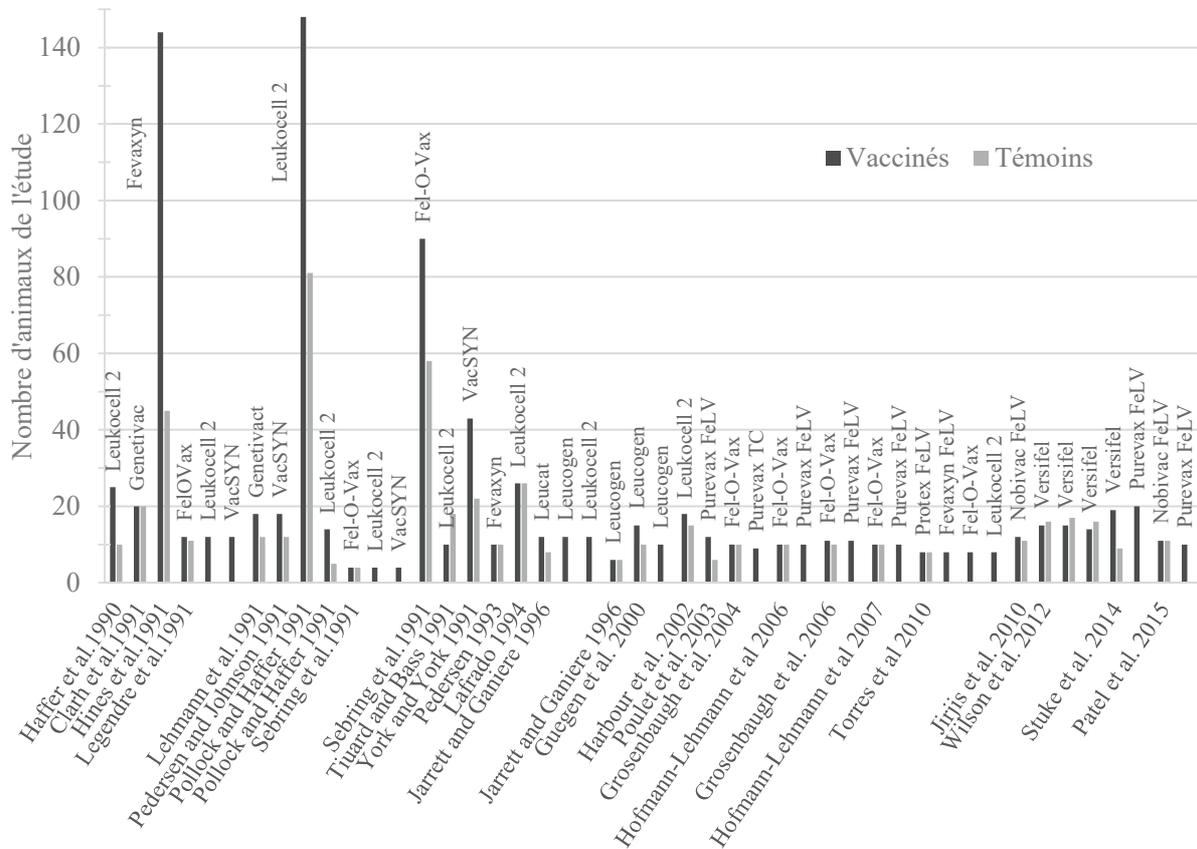


Figure 9. Nombre d'animaux inclus dans les études d'efficacité vaccinale, données entre 1990 et 1996 d'après Sparkes 1997

La comparaison des proportions de chats infectés dans ces échantillons de très petite taille est permise par le Test de Fisher Exact. Ce test permet d'affirmer qu'il existe une différence significative des proportions d'infectés persistants entre les témoins et les vaccinés. Toutefois, en raison des effectifs réduits, il est nécessaire d'observer des variations de fréquence importantes pour que la différence entre animaux vaccinés et témoins soit significative.

Cette difficulté peut être illustrée par la comparaison de deux études (Hofmann-Lehmann et al. 2006 ; Grosenbaugh et al. 2004) qui s'intéressent au vaccin recombinant Purevax® FeLV de Merial et au vaccin inactivé adjuvé Fel-O-Vax de Boehringer Ingelheim ®. Malgré la taille semblable des échantillons (entre 9 et 10 chats dans les groupes témoins et vaccinés) et un âge proche au moment de l'épreuve virulente (entre 4 et 4,5 mois), on constate dans le Tableau 5 qu'une variation de quelques individus augmente la p-value au-delà du seuil attendu, soit 0,05 (5 %). Ces variations suffisent à rendre la protection vaccinale non significative du point de vue statistique dans l'étude de Hofmann-Lehmann et al.

Il faut garder à l'esprit que les tests extrapolent les résultats obtenus sur l'échantillon à toute la population, les faibles effectifs utilisés peuvent donc être sources de biais dans les résultats.

Tableau 5. Exemples de calculs de signification statistique avec le test de Fisher Exact

Etude	Vaccins évalués	Nombre de chats		Virémie persistante		Signification statistique avec le test de Fisher exact (p-value)
		Vaccinés	Témoins	Vaccinés	Témoins	
Hofmann-Lehmann et al. 2006	Purevax	10	10	2 (20%)	9 (90%)	0,005
	Fel-O-Vax*	10		5 (50%)		0,141
Grosenbaugh et al. 2004	Purevax TC	9	10	0 (0%)	10 (100%)	< 0,001
	Fel-O-Vax*	10		0 (0%)		< 0,001
Jarret et Ganiere 1996	Leucogen	6	6	1 (17%)	5 (83%)	0.05

* Vaccin non disponible en France, TC : par voie transcutanée

La validation de l'efficacité vaccinale est aujourd'hui conditionnée non par les tests statistiques, mais par des seuils imposés par la Pharmacopée Européenne : moins de 20% d'infectés persistants dans le groupe vacciné et plus de 80% dans le groupe témoin. Toutefois on peut constater une bonne corrélation entre les résultats de ces outils : les essais vaccinaux qui respectent ces valeurs présentent systématiquement des p-value significatives (inférieures ou égales à 0,05).

2.2.1.2 Origine des animaux

La plupart des études portant sur l'efficacité vaccinale utilisent des chats exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), comme montré dans le Tableau 3 et Tableau 4. La recherche des taux de FeLV endogène (enFeLV) chez des chats provenant d'élevages différents a montré des écarts significatifs entre les taux observés chez les chats de propriétaires et chez les chats EOPS. De même, des variations ont été constatées entre les chats provenant d'élevages différents, les chats domestiques de races différentes, ou entre les chats domestiques et sauvages (Tandon et al. 2007). Etant donné le rôle potentiel du FeLV endogène dans la pathogénie du virus, l'origine des animaux peut être considérée comme un facteur de variation dans la sensibilité aux infections.

Si ce facteur n'influence pas l'efficacité relative des vaccins dans les études incluant plusieurs spécialités, il rend plus difficile la comparaison entre les études qui utilisent des chats d'origine différentes.

De plus, quel que soit l'élevage d'origine, les chats utilisés ne doivent présenter aucun anticorps dirigés contre le FeLV : anticorps anti-gp70 et anti-FOCMA (Pharmacopée Européenne 8.0 2013). On peut noter que la détection de l'ADN proviral n'est pas requise par la Pharmacopée.

2.2.1.3 Age des animaux

La grande majorité des études évalue l'efficacité vaccinale chez des animaux jeunes. Sur les 26 études indiquant l'âge des animaux étudiés, la moitié s'intéresse à l'efficacité du vaccin chez les animaux de moins de 6 mois.

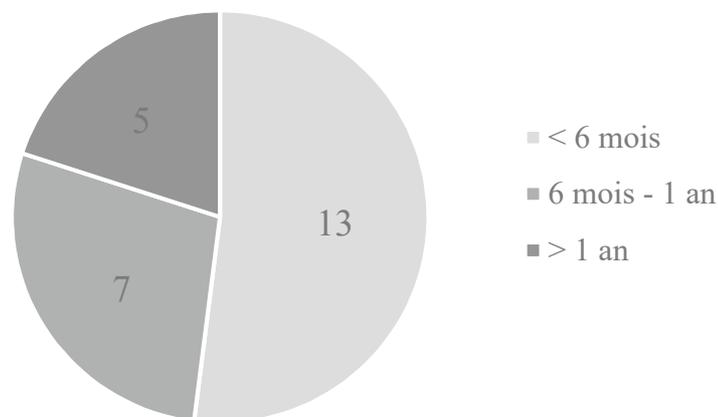


Figure 10. Répartition des études d'efficacité vaccinale en fonction de l'âge des animaux, total 26 animaux inclus, certaines études englobent plusieurs tranches d'âge

Ainsi, il existe moins de données sur l'efficacité de la réponse vaccinale chez l'adulte, alors que la majorité des animaux vaccinés sont des adultes. Ceci peut s'expliquer par la résistance naturelle contre l'infection par le FeLV, qui est corrélée à l'âge et à la maturation du système immunitaire, en particulier les macrophages.

En 2012, une étude clinique détaillée dans le Tableau 4 a tenté de déterminer la protection vaccinale contre le FeLV à 8, 20 et 36 mois post-vaccination (Vaccin Versifel® FeLV). Ici, à partir de 20 mois post-vaccination, seuls 45,5 % des 11 chats non vaccinés montraient une antigénémie persistante ; à partir de 36 mois post-vaccination, un seul des 10 chats du groupe contrôle montrait une antigénémie persistante. L'immunité liée à l'âge précédemment décrite pourrait être la cause du faible taux d'antigénémie persistante observé chez ces chats, adultes au moment de l'exposition. Ceci rend difficile la démonstration d'une immunité à long terme, en raison du taux de 80% de témoins infectés imposé par la Pharmacopée pour considérer le vaccin comme efficace (Wilson et al. 2012). Dans le même temps, ce constat soulève des interrogations quant à l'intérêt de maintenir la vaccination chez les adultes en bonne santé.

2.2.2 Modalités de l'épreuve virulente

L'épreuve virulente consiste à exposer les individus vaccinés et témoins au virus infectant suite au protocole de vaccination. Afin de garantir une bonne efficacité vaccinale, des souches particulièrement virulentes du FeLV sont utilisées lors de ce test. La réponse vaccinale au FeLV est considérée comme effective 7 à 10 jours après la vaccination (Scherk et al. 2013), mais l'épreuve peut être réalisée plusieurs semaines à plusieurs années après le dernier rappel vaccinal si l'on souhaite démontrer l'efficacité vaccinale à long terme.

La plupart des épreuves virulentes ne comportent qu'une inoculation de la souche virulente, mais deux inoculations sont parfois réalisées à un jour d'intervalle (Haffer et al. 1990 ; Grosenbaugh et al. 2004 ; Grosenbaugh, Leard, Pardo 2006 ; Jirjis et al. 2010). Certaines études réalisent même 4 expositions sur une semaine (Pedersen 1993).

2.2.2.1 Mode d'inoculation

L'administration de la souche virulente suite à la vaccination est un autre facteur de variation entre les études d'efficacité. Le virus est généralement inoculé en petite quantité (1 à 3 ml au total), avec des titres avoisinant 10^5 unités formant plages par millilitre. Ces concentrations, variables selon les études, sont évaluées dans la solution avant et après l'épreuve virulente, afin d'assurer un titre viral suffisant pour provoquer l'infection.

Les voies intrapéritonéale et oronasale sont en général préférées avec respectivement 12 et 13 études utilisant ces modes d'inoculation (pour un total de 28 études) : ce sont les méthodes recommandées par la monographie de la Pharmacopée Européenne.

L'exposition oronasale consiste en l'administration successive dans la bouche et le nez d'une solution contenant une souche virulente, en général 1 ml de solution réparti en 0,5 ml par voie orale et 0,25 ml dans chaque narine (Gueguen, S. et al. 2000; Grosenbaugh et al. 2004; Grosenbaugh, Leard, Pardo 2006). L'exposition intrapéritonéale est obtenue par injection de la solution en région caudo-latérale de l'abdomen ventral droit, en prenant soin de ne pas toucher les organes abdominaux (Wilson et al. 2012).

De manière anecdotique, des inoculations par voie sous-cutanée (Pollock, Haffer 1991) et intramusculaire (York, York 1991) ont été réalisées. Elles ont permis d'obtenir respectivement 60 % d'infectés sur 5 chats témoins et 63 % sur 22 chats, ce qui est insuffisant vis-à-vis de la Pharmacopée Européenne. Dans la deuxième étude, 3 ml de solution contenant le FeLV-A souche Rickard avaient été injectés par voie intramusculaire, en association avec 2 ml par voie intranasale.

Deux études utilisent un mode d'exposition naturel (Legendre et al. 1991 ; Lafrado 1994). Dans l'étude de Legendre et al., les chats étaient enfermés avec 12 chats infectés de manière persistante par le FeLV. Les chats partageaient les mêmes récipients pour la boisson, la nourriture, et les mêmes bacs à litière pendant 31 jours. Cette méthode a permis d'obtenir 64 % d'infectés persistants sur 11 chats témoins.

Un protocole similaire a été réalisé dans l'étude de Lafrado avec 4 % d'infectés persistants parmi les 26 témoins. L'infection persistante chez les chatons « sources » était obtenue par inoculation intraveineuse de la souche virulente FeLV-A/Rickard. Dans cette étude, l'effectif du groupe des chats « sources » avait fortement diminué suite aux décès imputables au FeLV : 2 chats sur 10 après 12 semaines d'étude et 6 chats sur 10 à la fin de l'étude.

2.2.2.2 Immunosuppression

Avant les années 2000, environ la moitié des épreuves virulentes comportaient une phase d'immunosuppression avant et/ou après la phase d'exposition au virus. Cette pratique n'est quasiment plus utilisée dans les études actuelles, à l'exception d'une étude (Patel et al. 2015).

Le protocole passe par l'administration de glucocorticoïdes (acétate de méthylprednisolone) par voie intramusculaire à doses immunosuppressives. Les doses utilisées varient entre 5 mg/kg (Haffer et al. 1990; Pedersen, Johnson 1991; Pedersen 1993; Harbour et al. 2002), 8 mg/kg (York, York 1991) et 10 mg/kg (Hines et al. 1991; Tizard, Bass 1991; Patel et al. 2015).

2.2.2.3 Souche utilisée

La Pharmacopée Européenne recommande l'usage de virus de type A lors des études évaluant l'efficacité des vaccins leucose. L'abandon de l'étape d'immunosuppression dans les nouvelles épreuves virulentes peut être relié à l'usage systématique de souches hyper-virulentes pour l'épreuve. Les souches concernées sont : FeLV-A/61E et FeLV-A/Glasgow1. Elles ont l'avantage de procurer des quantités suffisantes d'animaux infectés dans les groupes témoins (80%) chez les animaux de moins de 10 mois.

Ce constat n'est pas systématiquement retrouvé chez les animaux plus âgés : à l'exception des études de Poulet et al. en 2003 et Hofmann-Lehmann et al. en 2007, on retrouve des taux d'infection inférieurs à 80% chez tous les chats témoins de plus de 10 mois, comme montré dans le Tableau 6 présenté en page 64.

2.2.3 Paramètres évalués pour mettre en évidence l'infection

Afin d'évaluer objectivement l'efficacité de la réponse vaccinale, différents tests sont réalisés sur les animaux suite à l'épreuve virulente. Les variables obtenues peuvent être qualitatives ou quantitatives et concernent différents tissus. Si l'évolution des techniques de biologie moléculaire a permis d'ajouter de nouveaux paramètres dans les études d'efficacité, d'autres valeurs ne sont plus considérées comme pertinentes aujourd'hui.

La Pharmacopée Européenne recommande une observation clinique quotidienne des animaux pendant les 15 premières semaines, avec une recherche hebdomadaire de la virémie ou de l'antigénémie.

2.2.3.1 Echantillons prélevés

Le FeLV a la capacité d'infecter de nombreux tissus au cours de son évolution dans l'organisme (Figure 11). La phase d'invasion des muqueuses de la sphère oronasale et des tissus lymphoïdes locaux n'est pas prise en compte dans les études d'efficacité réalisées après 2000, car elle intervient chez la quasi-totalité des chats mis en contact avec le virus. En revanche, le passage du virus dans les lymphocytes et monocytes circulants est associé à une infection plus large de l'organisme : elle permet en particulier l'excrétion par les glandes salivaires.

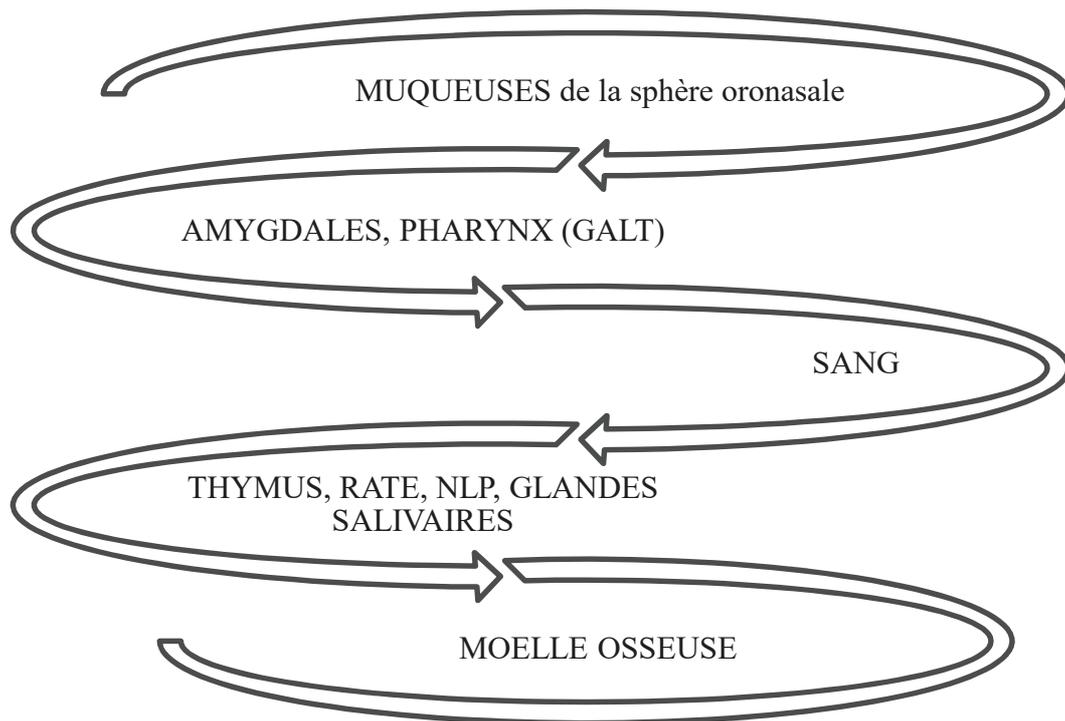


Figure 11. Localisations successives du FeLV au cours de l'infection.
GALT : tissus lymphoïdes associés au tractus intestinal ; NLP : nœuds lymphatiques périphériques

La présence du virus dans le thymus, la rate, les nœuds lymphatiques périphériques et les glandes salivaires n'est toutefois pas synonyme d'infection définitive : le passage à une infection régressive avec élimination du virus est encore possible à ce stade. Aussi, la présence du FeLV dans ces tissus est rarement évaluée dans les études d'efficacité, et n'est réalisée que post-mortem (Harbour et al. 2002).

De même, l'infection finale de la moelle osseuse qui est nécessaire pour obtenir une infection progressive, peut être contrôlée à ce stade. Les animaux sont dits infectés « latents » : ils abritent le virus dans la moelle osseuse mais pas dans le sang. Comme vu précédemment, ces chats peuvent soit subir une réactivation du virus suite à une perturbation (gestation, immunosuppression iatrogène), soit l'éliminer après plusieurs mois (Levy et al. 2008).

En dépit des renseignements qu'elle apporte sur la protection des vaccins contre l'infection latente, la recherche du virus ou des anticorps anti-FeLV dans la moelle osseuse n'est réalisée que dans 5 études sur 12 depuis 2000 (Poulet et al. 2003; Torres, Mathiason, Hoover 2005; Hofmann-Lehmann et al. 2006, 2007; Stuke et al. 2014).

2.2.3.2 Méthodes de détection du virus et de la réponse immunitaire

Les études d'efficacité réalisées après 2000 appuient la détection du virus par différentes techniques : le diagnostic sérologique direct ou indirect, l'isolement du virus infectieux par culture cellulaire et la mise en évidence du virus ou de sa réplication par PCR quantitative. L'immunofluorescence sur leucocytes circulant est aussi décrite comme une méthode appropriée par la Pharmacopée Européenne.

2.2.3.2.1 Diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique peut être direct, c'est-à-dire qu'il met en évidence un constituant caractéristique de l'agent infectieux (antigène p27 dans le cas du FeLV), ou indirect, il met alors en évidence une réponse immunitaire spécifique (anticorps neutralisants anti-gp70 et anticorps anti-FOCMA).

L'avantage du diagnostic direct réside dans la certitude en cas de positivité, c'est donc lui qui est utilisé dans la détection de l'infection par le FeLV, en clinique ou dans les études d'efficacité. Il faut toutefois garder à l'esprit que le prélèvement peut être pauvre en virus et donner un résultat négatif.

Le diagnostic indirect est généralement facile à mettre en œuvre, mais son interprétation peut être délicate : les anticorps apparaissent après un délai persistant au-delà de l'infection. Dans le cas du FeLV, il est donc utilisé pour évaluer la réponse immunitaire et non dans le diagnostic de l'infection persistante.

2.2.3.2.1.1 Diagnostic direct : mise en évidence de l'antigène p27

La structure de la protéine de nucléocapside p27 est similaire entre les souches du FeLV. Ses épitopes sont la cible de l'immunoabsorption à enzyme conjuguée, plus connu sous l'acronyme ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

Ce dosage peut être réalisé sur sérum ou plasma : l'échantillon est introduit dans des puits tapissés d'anticorps anti-p27. La fixation de l'antigène p27 s'accompagne d'une coloration bleue du puits. Après incubation et rinçage, une solution est ajoutée pour stopper la réaction, puis les puits sont examinés visuellement. Pour un résultat plus précis, l'absorbance est mesurée au niveau des puits, avec une longueur d'onde de 650 nm. Les échantillons sont considérés comme positifs si la densité optique est supérieure à 0,200 (Patel et al. 2015).

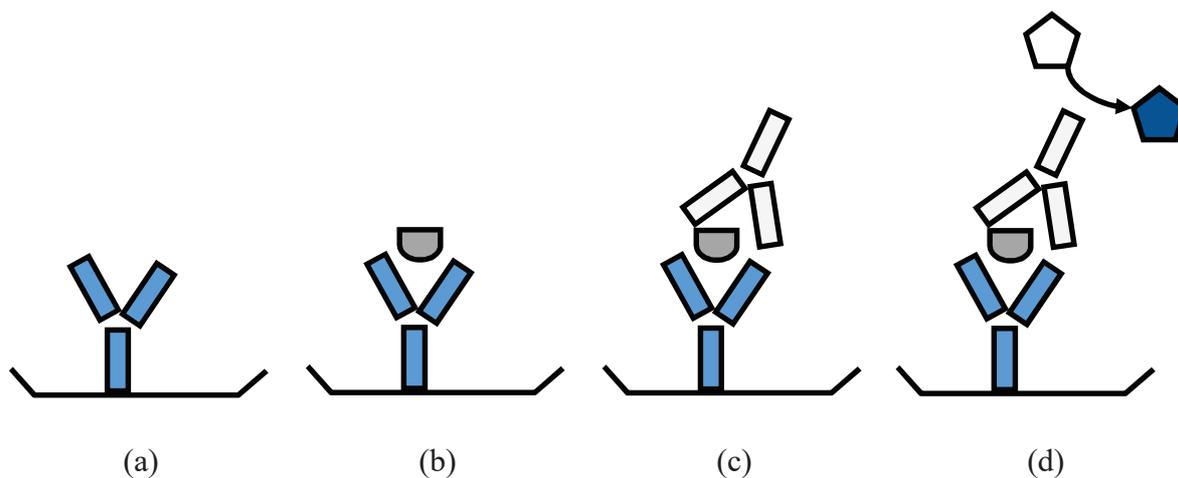


Figure 12. Principe de l'ELISA dans le diagnostic direct du FeLV
 Le puit recouvert d'anticorps (a) permet la liaison avec l'antigène p27 (b). Un anticorps détecte cette liaison (b) et entraîne la conversion de l'enzyme sous forme visible, ici une coloration bleue (d).

Une technique semblable est utilisée dans les kits commerciaux tels que le SNAP® Pet Check FeLV (IDEXX, Etats-Unis), ou le test en cupules Virachek® FeLV (Synbiotics, Etats-Unis). Prévus pour le diagnostic au chevet du patient, ils sont utilisés dans certaines études d'efficacité. En effet, une étude comparative publiée en 2007 constate que leurs performances sont proches des tests de laboratoires en puits (Hartmann et al. 2007). Elle recommande l'utilisation du test Duo Speed® (Bio Veto Test, France).

Si la détection isolée de l'antigène p27 ne donne pas d'information sur le stade de l'infection par le FeLV, des tests répétés au cours de 15 semaines suivant l'épreuve virulente permettent de mettre en évidence l'infection persistante. Les études datant d'avant les années 2000 présentaient des fréquences d'échantillonnage très variables : de 1 à 21 jours entre les prélèvements, comme montré sur le Tableau 3. Les études plus récentes suivent toutes les recommandations de la Pharmacopée Européenne, à savoir une détection de l'antigène p27 réalisée une fois par semaine.

Il faut cependant garder à l'esprit que l'ELISA p27 ne détecte pas tous les animaux virémiques : en 2001, Hofmann-Lehmann et al. comparent les résultats obtenus chez 61 chats naturellement infectés par le FeLV, et trouvent que 10% des chats positifs par PCR sont négatifs pour l'antigène p27 (Hofmann-Lehmann et al. 2001).

2.2.3.2.1.2 Diagnostic indirect : évaluation de la réponse immunitaire

La réaction du système immunitaire suite à la vaccination, puis à l'épreuve virulente, peut être évaluée grâce à la détection d'anticorps spécifiques du FeLV. Cette détection est réalisée grâce à la méthode d'ELISA indirecte : cette fois-ci, c'est l'antigène correspondant à l'anticorps recherché qui est fixé au fond des puits. L'ajout du sérum à tester dans les puits permet la fixation des anticorps (anti-gp70, anti-p45 ou anti-FOCMA), qui seront révélés par la fixation d'un anticorps secondaire, et la modification du substrat (coloration ou fluorescence).

Les anticorps séro-neutralisants du FeLV peuvent aussi être détectés grâce à une culture cellulaire (Torres et al. 2010) : le sérum à tester est incubé avec des cellules de fibroblastes félines (AH 927), puis avec une souche infectieuse du FeLV-A. Après 7 jours de culture, la détection d'antigènes p27 par ELISA est réalisée sur les échantillons. Ces derniers sont évalués par comparaison avec les sérums naïfs (témoin négatif) et ceux des chats infectés régressifs (témoin positif). Cette méthode a l'avantage de ne pas nécessiter de matériel spécifique à la détection d'anticorps : les cultures cellulaires sont déjà utilisées pour l'isolement du virus infectieux, le virus infectant est le même que celui utilisé pour l'épreuve virulente, et les tests ELISA p27 sont utilisés pour détecter l'infection chez les chats testés. En revanche, elle ne permet pas de préciser quel type d'anticorps est impliqué.

Le diagnostic indirect est utilisé dans un premier temps pour s'assurer que les chats n'ont pas été exposés au virus avant la vaccination. Dans un second temps, il permet d'évaluer la réponse immunitaire à médiation humorale suite à la vaccination, puis à l'épreuve virulente.

2.2.3.2.2 Isolement viral sur culture cellulaire

Cette technique est décrite comme méthode de référence par rapport aux tests sérologiques (Hartmann et al. 2007, p. 200), mais présente certaines limites qui empêchent son utilisation en routine. Elle détecte la présence de virus capable de se répliquer, ce qui n'est pas toujours le cas lorsque l'antigène p27 est détecté dans le sang. De plus, les conditions de transport et de conservation des échantillons peuvent limiter la capacité du virus à se répliquer : le sérum doit être conservé au froid à -70°C. En outre, cette méthode nécessite 11 à 21 jours de culture selon les études (Jarrett, Ganiere 1996; Hofmann-Lehmann et al. 2007; Torres et al. 2010).

Suite à l'inoculation par les souches virulentes, des échantillons de plasma sont prélevés chez les chats, puis incubés avec des lignées de fibroblastes félines (AH927, QN10S ou C81) pendant 2 heures. Les effets cytopathiques du FeLV infectieux sont ensuite recherchés

quotidiennement (Jarrett, Ganiere 1996; Harbour et al. 2002; Hofmann-Lehmann et al. 2007). Le FeLV infectieux peut aussi être mis en évidence grâce à la détection d'antigène p27 par ELISA dans le surnageant, tous les 3 jours. La valeur seuil pour l'ELISA dépend de la valeur d'absorbance observée sur les témoins négatifs (Torres et al. 2010).

Cette technique est applicable aux échantillons de moelle osseuse, et permet ainsi de détecter une infection latente. Dans ce cas, le virus sera détecté par sérologie (Poulet et al. 2003; Hofmann-Lehmann et al. 2006), ou grâce aux techniques de diagnostic moléculaire décrites ci-après (Poulet et al. 2003; Hofmann-Lehmann et al. 2007; Stuke et al. 2014).

2.2.3.2.3 Diagnostic moléculaire

Le développement de sondes capables de se fixer de part et d'autres des séquences spécifiques du FeLV exogène a permis l'utilisation de la réaction de polymérase en chaîne (PCR) dans les études d'efficacité vaccinale. Ces réactions ont pour cible soit l'ADN proviral contenu dans les cellules, soit l'ARN viral présent dans le sang.

2.2.3.2.3.1 PCR pour l'ADN proviral

La quantification de l'ADN proviral peut être utilisée pour identifier les chats ayant éliminé naturellement le virus (infection régressive). Chez ces animaux, la virémie n'est plus détectable mais des fragments d'ADN proviral peuvent persister, intégrés au génome des cellules de la moelle osseuse ou des tissus lymphoïdes (Torres, Mathiason, Hoover 2005; Hofmann-Lehmann et al. 2008).

Les techniques de PCR permettant la mise en évidence du FeLV exogène sont décrites par Miyazawa et Jarret (Miyazawa, Jarrett 1997). Elles sont utilisées sur la moelle osseuse pour détecter une éventuelle infection latente (Poulet et al. 2003). L'évolution de la PCR a permis par la suite de quantifier les taux d'ADN proviral, notamment grâce au développement de sondes TaqMan dirigées contre les séquences LTR du FeLV exogène (Hofmann-Lehmann et al. 2001 ; Torres, Mathiason, Hoover 2005).

Ceci permet d'évaluer la concentration en ADN proviral dans chaque cellule en utilisant des échantillons qui contiennent tous la même quantité leucocytes (Hofmann-Lehmann et al. 2006). Une autre solution est d'approximer après la PCR le nombre de cellules en fonction de la quantité d'ADN, en prenant par exemple la valeur de 6 pg d'ADN par cellule (Torres, Mathiason, Hoover 2005).

2.2.3.2.3.2 PCR pour l'ARN viral

La PCR en temps réel pour l'ARN viral mesure des taux de virus dans le plasma ou les sécrétions, qui sont en-deçà de la quantité détectable par la sérologie p27. De ce fait, il serait possible de détecter des taux de virus très faibles dans la salive des animaux considérés négatifs par les tests classiques (M Gomes-Keller et al. 2006).

La quantification de cet ARN a été développée peu après celle de l'ADN proviral (Tandon et al. 2005), elle n'est donc réalisée que depuis une dizaine d'années dans les études d'efficacité (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

Ces deux tests apparaissent très intéressants pour interpréter les tests antigéniques p27 discordants, les tests faiblement positifs sporadiques ou à la limite de la positivité qui pourraient signaler une infection latente dans la moelle osseuse. Ainsi, les méthodes de PCR en temps réel pourraient être utilisées pour confirmer la présence de l'infection, tout en quantifiant la charge virale (Willett, Hosie 2013).

Les méthodes utilisées pour évaluer l'efficacité vaccinale sont multiples, mais elles ne sont pas toutes employées dans les études d'efficacité. Aussi, les informations ne sont parfois disponibles que pour une partie des spécialités vaccinales commercialisées.

2.2.4 Résultats obtenus

2.2.4.1 Effet du vaccin sur la virémie persistante

La virémie persistante est détectée dans toutes les études publiées après 2000 grâce à la détection de l'antigène p27 dans le sang. Comme vu précédemment, l'influence de la vaccination sur la résistance à l'infection persistante peut être évaluée grâce au calcul de la fraction préventive. Le Tableau 6 présente les fractions préventives et les valeurs de p calculées pour les études d'efficacité prises en compte dans notre travail.

Certaines études révèlent des fractions préventives basses pour un vaccin, non concordantes avec les autres données de la littérature. Pour les études réalisées après 2000, on constate que les fractions préventives inférieures à 60% sont toujours associées à un résultat non statistiquement significatif ($p > 0,05$) (Torres, Mathiason, Hoover 2005; Hofmann-Lehmann et al. 2006, 2007; Torres et al. 2010; Patel et al. 2015). L'importance accordée à ces résultats discordants est donc à nuancer.

Tableau 6. Résultats des études réalisées sur les vaccins FeLV disponibles dans le commerce en France

Etude	Vaccins évalués	Nombre de chats		Virémie persistante		FPCIP (%)	SSP (P)	
		Vaccinés	Témoins	Vaccinés	Témoins			
Patel et al. 2015	Purevax FeLV	10	11	5 (50%)	10 (90%)	45%	0,063	
	Nobivac FeLV	11		0 (0%)		100%		
Stuke et al. 2014	Purevax FeLV	20	9	16 (80%)	8 (89%)	10%	1	
	Versifel	19		2 (10%)		88%		
Wilson et al. 2012	Versifel	15 (8 mois)	16	1 (6,7%)	8 (50%)	86%	0,015	
	(Challenge à 8,	15 (20 mois)		0 (0%)		11 (65%)		100%
	20 et 36 mois)	14 (36 mois)		0 (0%)		7 (44%)		100%
Jirjis et al. 2010	Nobivac FeLV	12	11	2 (17%)	11 (100%)	83%	< 0,001	
Torres et al. 2010	Leukocell 2	8	8	3 (37%)	7 (88%)	57%	0,119	
	Fevaxyn FeLV	8		0 (0%)		100%		
	Fel-O-Vax*	8		0 (0%)		100%		
	Protex FeLV*	8		5 (63%)		29%		
Hofmann-Lehmann et al. 2007	Purevax FeLV	10	10	2 (20%)	9 (90%)	78%	0,006	
	Fel-O-Vax*	10		5 (50%)		44%		
Grosenbaugh et al. 2006	Purevax FeLV	11	10	0 (0%)	10 (100%)	100%	< 0,001	
	Fel-O-Vax*	11		1 (9%)		91%		
Hofmann-Lehmann et al. 2006	Purevax FeLV	10	10	2 (20%)	9 (90%)	78%	0,005	
	Fel-O-Vax*	10		5 (50%)		44%		
Torres et al. 2005	Fel-O-Vax*	10	10	1 (10%)	7 (70%)	86%	0,582	
Grosenbaugh et al. 2004	Purevax TC	9	10	0 (0%)	10 (100%)	100%	< 0,001	
	Fel-O-Vax*	10		0 (0%)		100%		
Poulet et al. 2003	Purevax FeLV	12	6	0 (0%)	5 (83%)	100%	< 0,001	
Harbour et al. 2002	Leukocell 2	18	15	4 (22%)	9 (60%)	63%	0,038	
Guegen et al. 2000	Leucogen	10	10	1 (10%)	8 (80%)	88%	0,005	
	Leucogen+RCP	15		2 (13%)		84%		

* Vaccin non disponible en France, TC : par voie transcutanée, RCP : association avec vaccin rhinotrachéite, calicivirus et panleucopénie, FPCIP : fraction préventive contre l'infection persistante, SSP : signification statistique de la protection mise en évidence

En dépit de l'homogénéisation croissante des protocoles d'études d'efficacité vaccinale, une grande variabilité de résultats demeure pour chaque vaccin (Figure 13) : dans le cas du vaccin inactivé Leukocell® 2, les fractions préventives varient de 5% (Jarrett, Ganiere 1996) à 100% (Lafrado 1994), de même, le vaccin recombinant canarypox Purevax® FeLV présente une fraction préventive de 10% dans une étude (Stuke et al. 2014), alors qu'elle va jusqu'à 100% dans d'autres essais (Grosenbaugh, Leard, Pardo 2006 ; Poulet et al. 2003).

La comparaison des fractions préventives présentées en **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** ne permet pas de déterminer quel vaccin actuellement disponible en France confère la meilleure protection. En effet, tous permettent d'obtenir une protection vis-à-vis de l'infection persistante. Les vaccins inactivés Fevaxyn® FeLV et Versifel® FeLV présentent les résultats les plus homogènes : plus de 80% de fraction préventive dans l'ensemble des études.

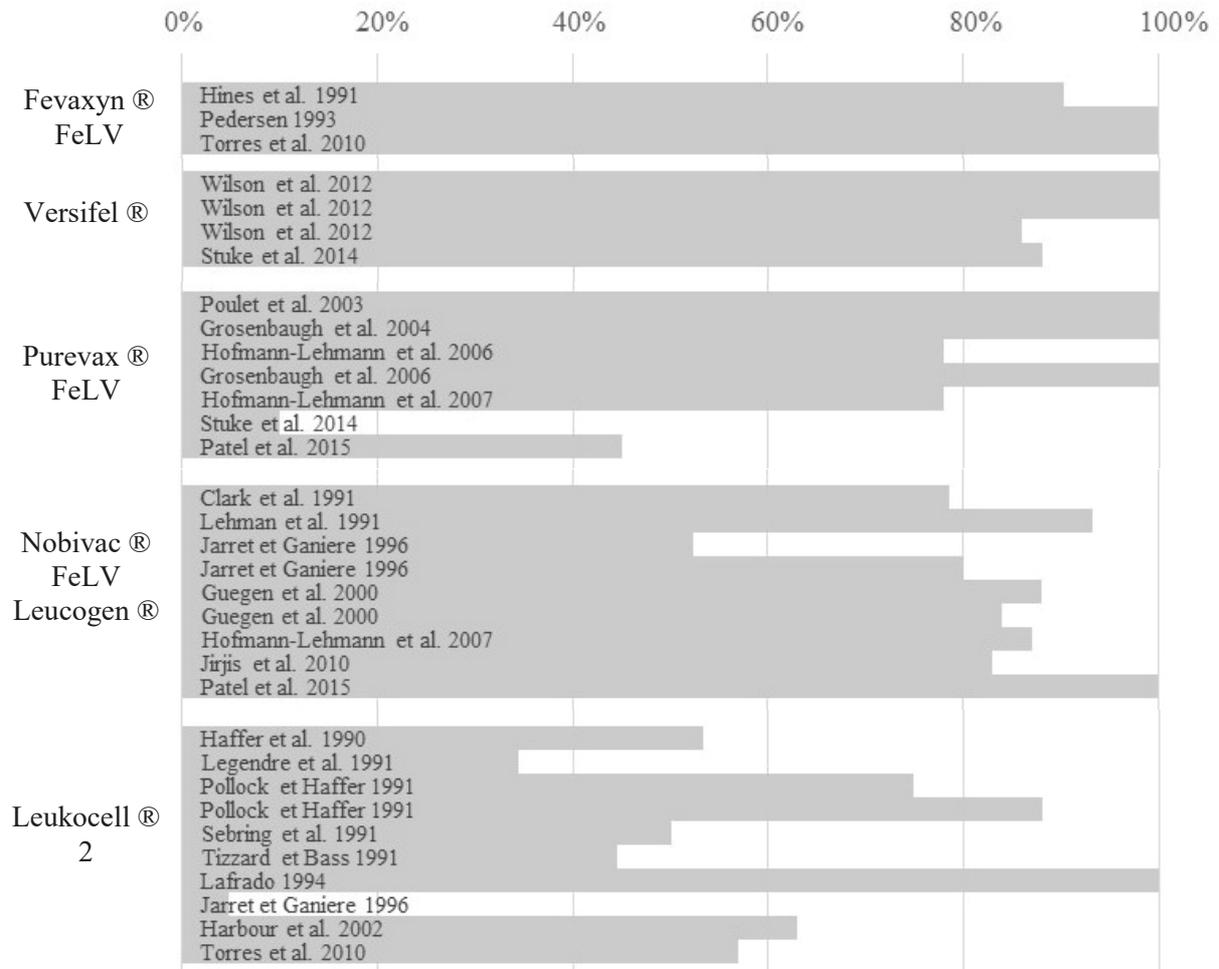


Figure 13. Fractions préventives des vaccins Leucose disponibles en France (Valeurs d'après Sparkes 1997 pour les études publiées avant 2000)

2.2.4.2 Effet du vaccin sur la virémie transitoire

La limite de la virémie transitoire est fixée par la Pharmacopée Européenne : un chat présentant une virémie pour une durée inférieure à 3 semaines consécutives sera considéré comme virémique transitoire. A l'exception de quatre études (Lafrado 1994; Jarrett, Ganiere 1996; Torres, Mathiason, Hoover 2005; Jirjis et al. 2010), la présence d'une virémie transitoire est toujours rapportée dans les groupes de chats vaccinés.

2.2.4.3 Réponse immunitaire à médiation humorale

La réponse immunitaire à médiation humorale, par le biais des anticorps neutralisants, est rapportée pour les vaccins inactivés adjuvés tels que Versifel® FeLV (Wilson et al. 2012) et Fel-O-Vax® (Hofmann-Lehmann et al. 2007), ou le vaccin sous-unité Nobivac® (Leucogen®) (Hofmann-Lehmann et al. 2007; Patel et al. 2015). En revanche, elle n'est pas observée suite à l'utilisation du vaccin canarypox Purevax® FeLV (Poulet et al. 2003; Hofmann-Lehmann et al. 2007; Patel et al. 2015). Dans le cas du vaccin canarypox, la présence d'anticorps anti-FeLV est rapportée suite à l'épreuve virulente (Poulet et al. 2003; Hofmann-Lehmann et al. 2007, 2006), mais n'est pas systématique (Patel et al. 2015).

Ces résultats montrent bien que s'il n'y a pour l'instant pas de supériorité d'un type vaccinal en termes de protection contre l'infection persistante, le mode de fonctionnement de ces spécialités met en jeu des mécanismes immunitaires très différents. Ceci rend particulièrement délicate la comparaison des vaccins lorsque le protocole inclut l'usage de molécules immunomodulatrices pour garantir l'infection.

2.2.4.4 Données de la biologie moléculaire

La détection des séquences spécifiques du FeLV exogène dans le sang a permis d'obtenir des informations supplémentaires sur l'évolution du virus dans l'organisme des chats vaccinés. La littérature présente des données divergentes : certaines études rapportent que les chatons exposés au virus (vaccinés ou non) deviennent tous positifs pour l'ADN proviral et l'ARN viral à partir d'une semaine post-exposition (Hofmann-Lehmann et al. 2006, 2007). A l'inverse, dans une étude utilisant d'autres sondes pour la PCR quantitative, certains animaux non antigénémiques ne présentaient jamais d'ADN proviral (Torres et al. 2010).

Toutefois, les animaux vaccinés par le vaccin recombinant Eurifel® (Purevax® FeLV) présentent des taux d'ADN proviral et d'ARN viral significativement inférieurs aux témoins, à partir respectivement de la troisième et deuxième semaine post-exposition. Ce constat, corrélé avec l'absence d'anticorps neutralisants, fait supposer que la réplication virale à bas bruit permet la présentation du virus au système immunitaire, suite à l'exposition des chats vaccinés. Cette exposition pourrait être nécessaire à l'acquisition d'une immunité solide contre le virus (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

Les connaissances actuelles ne permettent pas d'affirmer que les animaux non antigénémiques sont capables d'éliminer complètement l'ADN proviral de leur sang. Le suivi

à 3 ans de chats infectés régressifs a montré des taux d'ADN proviral très bas, parfois à la limite de la détection par PCR quantitative, mais pas de disparition complète du virus. Les données apportées par ces nouvelles méthodes quantitatives confirment que les vaccins actuels n'empêchent pas la réplication du virus chez les chats vaccinés. Ceci ne remet pas en cause leur importance dans la protection contre la Leucose Féline et l'allongement de l'espérance de vie chez les chats vaccinés. Néanmoins, elles indiquent que la recherche de vaccins plus efficaces, capables de prévenir l'intégration du provirus, doit continuer (Hofmann-Lehmann et al. 2007).

2.2.4.5 Détection d'une infection latente

Les méthodes de biologie moléculaire décrites précédemment permettent d'évaluer la présence d'une infection latente en complément de l'antigénémie persistante. L'antigène p27 peut être détecté sur des échantillons de moelle osseuse.

Un cas de chat non antigénémique, positif pour l'antigène p27 dans la moelle osseuse est décrit (Poulet et al. 2003) : il est considéré comme infecté latent après 3 semaines de résultats positifs, suite à une inoculation oronasale. Dans la même étude, la détection du virus dans la moelle a été réalisée par PCR et a permis de mettre en évidence deux chats supplémentaires infectés de façon latente parmi les 15 chats vaccinés de l'étude. Chez les chats témoins, l'antigénémie était associée à une PCR positive sur la moelle osseuse.

Des prélèvements de moelle osseuse (Hofmann-Lehmann et al. 2006) associés à une culture cellulaire durant 4 semaines en présence de 10^{-6} mol/l d'hydrocortisone ont permis de détecter une infection latente chez deux chats vaccinés. Le vaccin Purevax® FeLV testé dans les deux études ici ne permet donc pas une protection totale contre l'infection latente.

Si l'infection latente n'est pas associée au déclenchement immédiat de la Leucose féline, il a été vu précédemment qu'elle peut la favoriser suite à une réactivation du virus (traitement immunomodulateur, gestation ou stress important).

Les études d'efficacité vaccinale décrites précédemment ont permis d'enrichir les informations sur la réponse immunitaire à l'infection par le FeLV. Leurs résultats divergent cependant sur plusieurs points : fractions préventives variables pour un même vaccin, efficacité à long terme plus ou moins difficile à prouver, ou encore définition d'une infection abortive ou latente vis-à-vis des données apportées par la biologie moléculaire. Pour cette raison, il apparaît essentiel de pointer les paramètres qui peuvent faire varier l'efficacité vaccinale au cours des études, en ceci qu'ils représentent des biais lors de l'évaluation de la réponse vaccinale.

2.3 Paramètres influençant l'évaluation de la réponse vaccinale

2.3.1 Durée des études et âge des animaux étudiés

La nécessité d'effectuer des rappels annuels pour les vaccins Leucose représente une contrainte financière et de disponibilité pour les propriétaires. De plus, la fréquence des rappels augmente la probabilité de voir apparaître des effets secondaires à la vaccination. Les fabricants de vaccins tendent donc à démontrer l'efficacité des vaccins pour des durées supérieures à un an. Ceci est rendu difficile par la résistance naturelle des chats adultes à l'infection dès l'âge de 10 mois (Wilson et al. 2012).

En 2010, une étude sur le vaccin Nobivac® (Leucogen®) démontre une protection contre l'infection persistante pour au moins deux ans (Jirjis et al. 2010). En 2012, le travail effectué sur le vaccin inactivé Versifel® FeLV conclut à une protection vaccinale jusqu'à 3 ans après la vaccination des chatons (Wilson et al. 2012).

En dépit de ces études, on peut constater que les fabricants recommandent une durée entre les rappels moins importante : tous les ans pour Leucogen® et tous les deux ans pour Versifel® FeLV. Ce dernier est le seul disponible à l'heure actuelle avec une autorisation de mise sur le marché pour des rappels supérieurs à un an.

Outre la résistance liée à l'âge, l'évaluation de l'efficacité vaccinale à long terme nécessite un contrôle des chats vaccinés durant plusieurs années, avec des délais importants entre le dernier rappel vaccinal et l'exposition au virus. Ceci pourrait expliquer que seules 5 études d'efficacité évaluent la réponse vaccinale au-delà d'un an dans la littérature (Harbour et al. 2002; Poulet et al. 2003; Jirjis et al. 2010; Wilson et al. 2012).

En dépit du manque de données sur l'efficacité vaccinale à long terme, l'ABCD suggère de limiter les rappels à une injection tous les 2 à 3 ans chez les chats adultes en bonne santé, en raison de leur résistance naturelle à l'infection.

2.3.2 Infections intercurrentes

En 2014, une étude comparative évaluant l'efficacité des vaccins Purevax® FeLV et Versifel® FeLV rapporte une infection concomitante par le parvovirus félin chez deux chats. La source la plus probable de cette infection serait une inoculation accidentelle lors de l'épreuve virulente (Stuke et al. 2014).

Dans cette étude, 20 autres chats infectés de manière persistante par le FeLV ont été euthanasiés avant le développement de signes cliniques, sans que leur statut vis-à-vis du parvovirus félin ne soit rapporté. Une conséquence de l'infection par le parvovirus félin est la réduction du taux de leucocytes circulants associée à une immunosuppression. Par conséquent, ce type d'affection intercurrente est susceptible de biaiser l'évaluation de l'efficacité vaccinale, car les animaux vaccinés sur le terrain sont supposés être en bonne santé (Hofmann-Lehmann, Levy, Willett 2015).

La prise en compte de cette infection apparaît particulièrement importante dans cette étude car 13 des chats euthanasiés faisaient partie du groupe de 20 chats vaccinés avec Purevax® FeLV, contre zéro chez les 20 chats vaccinés avec Versifel® FeLV. Or, le vaccin recombinant Purevax® FeLV met principalement en jeu une réponse immunitaire à médiation cellulaire, plus impactée par l'infection par le parvovirus félin que la réponse majoritairement humorale induite par le vaccin inactivé Versifel® FeLV (Stuke et al. 2015).

Si la présence d'une infection intercurrente n'est pas rapportée dans les études d'efficacité précédentes, elle n'est pas non plus recherchée dans ces études. La recherche d'agents infectieux dans l'inoculum de l'épreuve virulente semble donc un test pertinent à réaliser lors des études d'efficacité, au vu de l'influence des infections concomitantes sur la réponse vaccinale.

2.3.3 Taux de FeLV endogène chez les animaux

Une association entre des taux de FeLV endogène (enFeLV) et la réplication du FeLV est rapportée par Tandon et al. (2008) : les chats porteurs de taux importants d'enFeLV montrent une réplication virale plus importante que les chats avec des taux d'enFeLV bas durant la phase précoce de l'infection persistante. Toutefois, cette étude ne montre pas d'augmentation de l'incidence de l'infection persistante associée à cette réplication importante (Tandon, Cattori, Pepin, et al. 2008).

Malgré l'absence de données sur les conséquences cliniques des différents taux d'enFeLV chez les chats infectés, ils sont associés à des différences significatives de réplication virale suite à l'exposition. Il apparaît donc nécessaire de prendre en compte la variabilité des taux d'enFeLV observés chez les chats d'origine différente (notamment dans les lignées exemptes d'organismes pathogènes spécifiés) lors de la mise en place d'études d'efficacité vaccinale.

2.3.4 Fréquence d'échantillonnage

La pharmacopée Européenne recommande de procéder à « une recherche de la virémie ou de l'antigénémie (protéine p27) par une méthode appropriée telle que l'immunofluorescence sur leucocytes circulants ou essai d'immunoabsorption à enzyme conjuguée », une fois par semaine « à partir de la 3^{ème} semaine » à compter de l'épreuve virulente (Pharmacopée Européenne 8.0 2013). Ceci apparaît pertinent lorsque l'étude se limite à la recherche d'une infection persistante par les méthodes traditionnelles décrites ci-dessus.

Toutefois, les données apportées par la PCR quantitative indiquent que les deux premières semaines post-challenge peuvent être des moments importants dans l'évaluation de la réponse immunitaire, puisque certains vaccins sont associés à une intégration précoce du provirus (Hofmann-Lehmann, Levy, Willett 2015). Il apparaît donc pertinent d'inclure les données de ces deux semaines dans les études utilisant les méthodes PCR quantitative pour l'ARN viral et l'ADN proviral.

2.3.5 Conditions de l'épreuve virulente

2.3.5.1 *Variant utilisé*

Lors du test de l'efficacité vaccinale, il apparaît essentiel de préciser la relation entre le variant du FeLV contenu dans le vaccin, et celui utilisé lors de l'épreuve virulente (Hofmann-Lehmann, Levy, Willett 2015). Ceci est d'autant plus vrai lorsque l'étude compare l'efficacité de deux vaccins : une souche homologue à l'une des deux spécialités serait susceptible de biaiser les résultats en sa faveur. En particulier, on peut s'interroger sur la pertinence, dans une étude récente (Torres et al. 2010), d'utiliser la souche FeLV-A/61E pour l'épreuve virulente du vaccin inactivé Fevaxyn®, qui rappelons-le, est fabriqué à partir de cette même souche inactivée.

L'utilisation d'un variant hétérologue au(x) vaccin(s) dans l'épreuve virulente semble plus représentative de la protection des animaux en conditions de terrains, toutefois elle n'est pas imposée par la réglementation. En effet, la Pharmacopée Européenne n'impose que le sous-groupe de la souche virulente dans ses textes : l'épreuve est réalisée grâce à une « suspension d'une forme virulente du virus de la leucose féline d'intérêt épidémiologique et constituée principalement de virus de type A » (Pharmacopée Européenne 8.0 2013).

2.3.5.2 Voie d'inoculation

Dans certaines études, l'exposition des animaux au virus en conditions réelles est mimée expérimentalement, par exemple en gardant les chats témoins et vaccinés enfermés avec des chats infectés de manière persistante. Cette méthode a l'avantage de se rapprocher de l'exposition « naturelle », mais nécessite un grand nombre d'animaux pour obtenir le nombre nécessaire de témoins infectés.

Pour cette raison, de nombreuses équipes choisissent d'utiliser un système d'exposition artificiel. Le virus est alors administré par voie oronasale ou par injection intrapéritonéale. Ces méthodes permettent d'augmenter la proportion de chats témoins infectés, et donc de réduire le nombre total de chats nécessaires pour l'évaluation de l'efficacité vaccinale. Ces techniques de contamination plus économes laissent ouverte la question du vrai reflet de l'efficacité du produit dans les conditions naturelles d'infection, où le virus se transmet par des contacts prolongés entre individus (Sparkes 1997).

Les bonnes pratiques en vaccinologie vétérinaire consistent à utiliser un modèle d'exposition aussi proche que possible des conditions naturelles d'infections. Pour le FeLV, la voie oronasale ou le contact avec les animaux infectés excréteurs apparaissent donc comme les méthodes de choix pour tester les vaccins (Poulet, Thibault, Masias 2015). Néanmoins, la voie intrapéritonéale reste conseillée pour l'évaluation de l'efficacité vaccinale (Pharmacopée Européenne 8.0 2013). En effet, elle présente l'avantage d'assurer une dose identique de virus inoculé dans les essais comparatifs, et d'obtenir des taux d'infection importants et reproductibles chez les chats témoins. De plus, il est possible qu'elle se produise en conditions naturelles lors de la contamination par morsure (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

2.3.5.3 Immunosuppression

Toujours dans le but de faciliter l'infection chez les chats testés, certains essais vaccinaux ont recours à une immunosuppression. Cette dernière est obtenue grâce à l'administration de corticoïdes à fortes doses, on peut naturellement s'interroger sur leur impact sur la réponse vaccinale.

En effet, l'administration de glucocorticoïdes permet de moduler les gènes impliqués dans la réponse immunitaire non spécifique, tout en agissant sur la réponse spécifique par interaction avec les complexes récepteurs des lymphocytes T. Ils ont une action suppressive sur l'immunité

à médiation cellulaire (lymphocytes T auxiliaires de type 1), tout en promouvant l'immunité à médiation humorale via les anticorps circulants (Franchimont 2004; Löwenberg et al. 2007).

Or, on a vu précédemment l'importance de la réponse cellulaire dans la protection vis-à-vis du FeLV. Une étude réalisée en 2006 montre que cette réponse est particulièrement impliquée dans l'action des vaccins recombinants (El Garch et al. 2006). Les chatons vaccinés par voie transdermique avec le vaccin recombinant Purevax® FeLV présentaient une fréquence significativement plus élevée de lymphocytes T spécifiques du FeLV parmi les lymphocytes du sang périphérique. Cette activité cellulaire spécifique du FeLV était à peine détectable chez les chats vaccinés avec une spécialité du commerce contenant le virus inactivé.

En outre, l'usage des corticoïdes à des posologies égales ou supérieures aux doses immunosuppressives pose le problème des effets secondaires. En effet, l'usage des glucocorticoïdes à la dose de 10 mg/kg (contre 5 mg/kg dans les autres études) est associé à des signes cliniques dans certaines études : perte de poids, déshydratation, léthargie (Patel et al. 2015). Ceci soulève une question éthique, mais aussi d'interférence avec les résultats des essais vaccinaux.

Les difficultés à obtenir une infection persistante en conditions expérimentales peuvent être résolues par l'usage de souches hyper virulentes du FeLV lors de l'exposition post-vaccinale. Par exemple, la souche FeLV-A/61E est utilisée dans plusieurs études récentes et permet de se dispenser des traitements immunosuppresseurs (Grosenbaugh et al. 2004; Torres, Mathiason, Hoover 2005; Grosenbaugh, Leard, Pardo 2006; Torres et al. 2010).

3 Discussion : détermination des critères d'efficacité pour les vaccins Leucose

3.1 Variabilité de l'efficacité constatée en fonction des études

Dix-neuf ans après les travaux de Sparkes sur les différentes formulations visant à favoriser l'immunité des chats contre le FeLV (Sparkes 1997), et en dépit des efforts réalisés depuis pour homogénéiser les conditions expérimentales, force est de constater que les études évaluant l'efficacité vaccinale présentent encore des résultats variables, voire divergents pour les vaccins actuellement disponibles. Ainsi, si certains vaccins inactivés comme Fevaxyn® ou Versifel® FeLV affichent des résultats plus constants que les autres, ce sont aussi ceux qui ont été le moins étudiés, avec respectivement 3 et 2 études d'efficacité, comme vu en Figure 13.

Les données de la bibliographie montrent une bonne efficacité des vaccins Leucose dans la protection contre l'infection persistante, en particulier chez les jeunes, plus sensibles à l'infection (Hoover et al. 1976; Cotter 1991; Hartmann 2012; Wilson et al. 2012). Toutefois, elles ne permettent pas, à l'heure actuelle, de conclure à la supériorité d'une spécialité vaccinale, ou même d'un type de vaccin (inactivé ou recombinant) sur un autre.

Il existe plusieurs obstacles à la comparaison entre études, ou au sein d'une même étude. Il a été vu précédemment que ces biais peuvent être difficiles à éviter car inhérents à la physiopathologie de l'infection par le FeLV. D'une part la sensibilité variable en fonction de l'âge (Wilson et al. 2012), qui soulève la question de l'intérêt de la vaccination chez l'adulte en bonne santé. D'autre part, l'influence possible du taux de FeLV endogène présent chez les chats testés (Tandon, Cattori, Pepin, et al. 2008).

En outre, de nombreux biais liés aux conditions expérimentales demeurent et ne sont pas systématiquement pris en compte dans les études récentes. Une infection intercurrente peut être provoquée par contamination de l'inoculum lors de l'épreuve virulente (Stuke et al. 2014), la détection d'agents pathogènes dans les produits injectés aux animaux testés apparaît donc pertinente. De même, l'utilisation d'un variant homologue au vaccin pour l'épreuve virulente (Torres et al. 2010), ou recours à l'immunosuppression par les glucocorticoïdes (Patel et al. 2015) peuvent influencer les résultats obtenus. Enfin, les effectifs utilisés dans les études sont le plus souvent inférieurs aux minima recommandés, soit 15 chats vaccinés pour 10 chats témoins (Pharmacopée Européenne 8.0 2013), ce qui donne un poids important aux variations individuelles et rend plus difficile l'obtention de résultats statistiquement significatifs.

3.2 Pertinence des critères d'efficacité utilisés

A ces biais s'ajoute une grande variabilité des informations recherchées lors des études d'efficacité. La détection de l'antigène p27 par immunoadsorption à enzyme conjuguée est reconnue comme méthode fiable pour évaluer la virémie, elle est donc utilisée dans toutes les études récentes, avec des délais établis pour définir la persistance de l'infection (Pharmacopée Européenne 8.0 2013). Toutefois, la recherche de signes cliniques, ou de paramètres tels que l'infection transitoire, latente ou la présence d'acides nucléiques du FeLV dans le sang ne sont pas systématiques. Il apparaît donc important de définir les critères pertinents lors de l'évaluation de l'efficacité des vaccins Leucose actuels.

3.2.1 Critères ne permettant pas l'évaluation de l'efficacité vaccinale

3.2.1.1 Détection d'une virémie transitoire

Dans la plupart des études d'efficacité, des cas de virémie transitoire sont détectés parmi les groupes de chats. Si elle a pu être évaluée comme critère d'efficacité vaccinale, aucun vaccin actuellement disponible ne protège les animaux contre cette phase de circulation du virus dans l'organisme (Sparkes 1997 ; Grosenbaugh, Leard, Pardo 2006). L'objectif de la vaccination Leucose étant de protéger les animaux contre l'infection persistante et les signes cliniques associés, la mise en évidence d'une virémie transitoire n'apparaît pas comme un critère pertinent pour juger de l'efficacité vaccinale.

3.2.1.2 Observation de signes cliniques non spécifiques

Les maladies associées à l'infection persistante par le FeLV sont diverses : lymphomes, leucémies, atteintes non malignes de la moelle osseuse, états dysimmunitaires, troubles neurologiques ou de la reproduction. Toutefois, les signes cliniques associés à ces affections sont rarement spécifiques : abattement, anorexie, perte de poids, entéropathie, lymphadénopathie. L'apparition de ces signes chez les animaux participant aux études d'efficacité est donc à interpréter avec précaution.

En particulier, on a vu que des facteurs autres que le FeLV peuvent causer des signes non spécifiques au cours des études d'efficacité. Une perte de poids associée à une déshydratation, et de la léthargie ont été observées avec des doses élevées de glucocorticoïdes (Patel et al. 2015). Dans une étude comprenant des chats infectés accidentellement par le parvovirus félin, des signes tels que de l'abattement, perte de poids, déshydratation, léthargie, ataxie ou gingivite

sont désignés comme liés au FeLV sans que le statut des chats vis-à-vis du parvovirus ne soit détaillé (Stuke et al. 2014).

De plus, si les virus utilisés lors des épreuves virulentes ont la capacité d'infecter facilement les animaux, l'infection persistante n'est pas toujours associée à l'apparition précoce de signes cliniques : Hofmann-Lehmann et al. rapportent que la souche Glasgow 1 induit rarement une atteinte clinique durant les deux premières années d'infection (Hofmann-Lehmann et al. 2006).

3.2.1.3 Infections concomitantes

Le virus est connu pour causer des états dysimmunitaires, favorisant le développement d'infections concomitantes (Lutz et al. 2009). La présence de co-infections chez les chats virémiques est difficilement interprétable, car peu d'études permettent de comparer la prévalence des infections bactériennes, virales ou fongiques avec les chats non infectés par le FeLV. Aussi, il ne faut pas supposer que toutes les infections intercurrentes observées chez les chats FeLV-positifs sont dues à l'infection. Ce paramètre ne peut donc être retenu pour évaluer l'efficacité des vaccins (Hartmann 2011).

3.2.1.4 Présence d'anticorps dirigés contre le FeLV

La recherche d'anticorps dirigés contre le FeLV est utilisée dans les études d'efficacité vaccinale afin de s'assurer que les animaux vaccinés sont bien naïfs vis-à-vis du FeLV. Le virus peut être détecté par PCR quantitative dans les organes de chats infectés régressifs, plus de 12 ans après leur infection, et certains continuent de présenter des taux d'anticorps anti-FeLV élevés (Helfer-Hungerbuehler et al. 2015).

Si cette méthode apparaît intéressante pour évaluer la réponse immunitaire à médiation humorale, on a vu que les vaccins ne mettent pas en jeu les mêmes mécanismes. En particulier, les anticorps neutralisants spécifiques du FeLV ne sont pas observés suite à la primovaccination par le vaccin Purevax® FeLV (Poulet et al. 2003 ; Hofmann-Lehmann et al. 2007 ; Patel et al. 2015). La présence des anticorps spécifiques du FeLV ne peut donc pas être considérée comme un paramètre évaluant l'efficacité des vaccins.

3.2.1.5 Anticorps anti-FOCMA

La présence d'anticorps anti-FOCMA confère une protection vis-à-vis des tumeurs provoquées par le FeLV, mais elle n'a pas d'influence sur la survenue des autres affections liées au FeLV (Essex et al. 1971; William D. Hardy et al. 1976). Partant de ce constat, l'antigène FOCMA a été inclus dans la formulation du vaccin inactivé Leukocell® 2. Toutefois, il

semblerait que l'effet protecteur des anti-FOCMA contre la virémie persistante soit moins important que celui des autres anticorps spécifiques du FeLV (Harbour et al. 2002). La mesure de ces anticorps n'apparaît donc pas pertinente pour évaluer l'efficacité vaccinale. Elle reste toutefois intéressante pour s'assurer de la naïveté des chats testés vis-à-vis du FeLV.

3.2.2 Critères pertinents à inclure dans les études d'efficacité

3.2.2.1 Détection de l'antigène p27

La détection de l'antigène p27 dans le sang des animaux est la technique communément utilisée pour mettre en évidence une infection persistante. La description de cette dernière est aujourd'hui adoptée et donnée dans la Pharmacopée Européenne 8.0 (2013). De plus, des minima sont fixés quant aux effectifs et au nombre d'animaux protégés nécessaires pour affirmer l'efficacité du vaccin. Si ces consignes permettent d'homogénéiser les conditions entre les études, elles ne sont jamais toutes respectées dans les études publiées à ce jour.

3.2.2.2 Détection du virus infectieux par isolement sur culture cellulaire

La mise en évidence du virus infectieux est décrite comme plus sensible que la détection d'antigène p27 (Hartmann et al. 2007). Cette méthode n'est pas employée systématiquement, probablement en raison des conditions contraignantes qu'elle impose : conservation au froid des échantillons et temps nécessaire à l'interprétation des résultats. Pour la même raison, lorsqu'elle est utilisée, la détection par isolement sur culture n'est pas effectuée sur tous les échantillons, mais seulement toutes les 3 à 4 semaines (Jarrett, Ganiere 1996; Hofmann-Lehmann et al. 2007; Torres et al. 2010).

L'interprétation de l'isolement sur culture cellulaire permet pourtant d'obtenir des données précises lorsqu'elle est couplée à la détection d'antigène p27 par ELISA dans le surnageant (Torres et al. 2010).

3.2.2.3 Quantification des acides nucléiques du FeLV

Le développement de sondes visant à amplifier les séquences d'ARN et ADN spécifiques du FeLV a permis une meilleure compréhension des modalités de l'infection. En particulier, il apparaît que les chats infectés de manière régressive, qui étaient considérés comme ayant complètement éliminé l'infection, conservent en fait de faibles niveaux d'ARN viral et d'ADN proviral dans leur sang (Hofmann-Lehmann et al. 2006) et leurs organes (Helfer-Hungerbuehler et al. 2015).

L'application de ces méthodes à l'évaluation de l'efficacité vaccinale a permis de mettre en évidence la persistance à long terme de faibles taux d'acides nucléiques du FeLV, même chez les chats considérés comme protégés par les méthodes de diagnostic traditionnelles, comme vu en Figure 14. A ce jour, l'ABCD ne considère pas ces taux d'ADN proviral et d'ARN viral comme cliniquement significatifs et recommande de considérer les chats concernés comme protégés vis-à-vis du virus (Lutz et al. 2009).

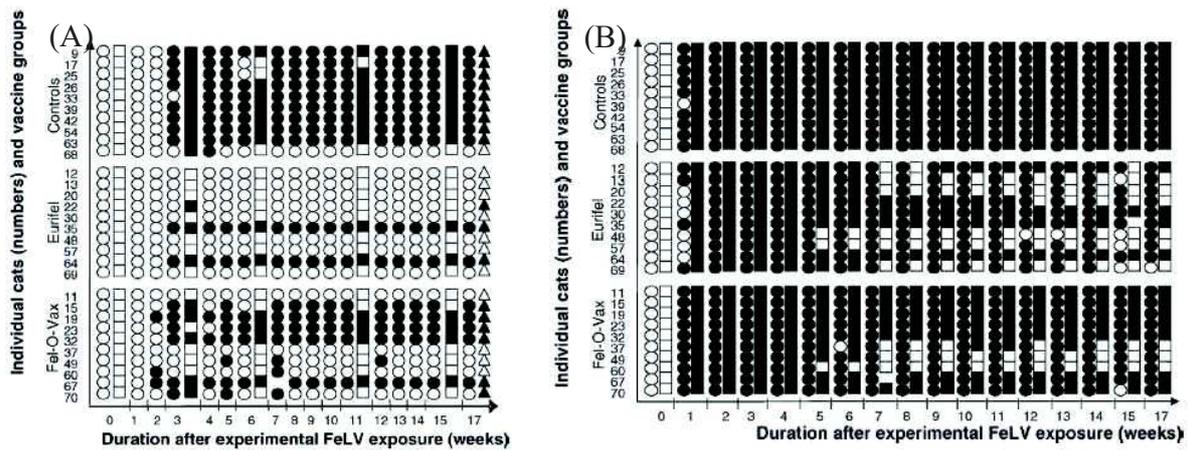


Figure 14. Résultats de l'épreuve virulente par le FeLV pour un groupe témoin et deux groupes vaccinés avec Eurifel® et Fel-O-Vax® analysés avec différentes méthodes (A) Méthodes conventionnelles ELISA p27 (cercles), isolement sur sang (carrés) et isolement sur moelle osseuse (triangles) ; (B) Méthodes moléculaires de PCR Taqman pour le provirus du FeLV (cercles), et de RT-PCR pour l'ARN du FeLV (carrés) ; les symboles vides sont des résultats négatifs, les symboles pleins des résultats positifs, d'après Hofmann-Lehmann et al.2006

Toutefois, la détection des acides nucléiques du FeLV dans de nombreux tissus chez les chats régressifs pose la question d'une éventuelle réactivation possible du virus. Une étude rétrospective menée sur 19 chats, a mesuré les taux d'ARN viral dans des échantillons de sang prélevés au cours des 15 premières semaines après infection. Les résultats ont montré que les chats infectés régressifs avaient des taux d'ARN viral intermédiaires entre les chats virémiques et les chats infectés régressifs n'ayant pas réactivé le virus (Helfer-Hungerbuehler et al. 2015). Ainsi, l'établissement de seuils pour les taux d'ARN viral détectés dans le sang pourrait permettre une analyse plus fine de la protection obtenue grâce aux vaccins, et donner une idée de la probabilité de réactivation du virus chez les animaux vaccinés.

3.2.2.4 Déclenchement d'affections associées au FeLV

Si les signes cliniques associés au FeLV ne sont pas spécifiques et les conséquences de l'immunosuppression difficiles à évaluer, le développement de certaines affections peut être imputé à la présence du virus chez les chats virémiques. Il s'agit d'atteintes de la moelle osseuse (néoplasiques ou non) : anémie, lymphome, leucopénie ou thrombopénie, leucémie ou désordres myéloprolifératifs (Cotter 1991). Chez les chats infectés déclarant des signes cliniques, un diagnostic réalisé après nécropsie permet d'identifier objectivement l'affection en cause (Helfer-Hungerbuehler et al. 2015). Cette recherche n'est pas toujours effectuée sur les chats euthanasiés dans les études d'efficacité vaccinale, probablement car peu d'entre eux ont le temps de développer des signes cliniques. Elle offre pourtant des indications sur la protection des animaux contre les conséquences de l'infection.

3.2.3 Evaluation de la protection contre l'infection latente

A partir de 3 semaines suivant l'épreuve virulente, les cellules de la moelle osseuse peuvent être infectées par le FeLV. Certains animaux, capables de contrôler l'infection à ce stade, ne sont plus antigénémiques, mais continuent d'abriter le virus dans la moelle : il s'agit d'une infection latente. Les chats infectés latents éliminent progressivement le virus de leur organisme après plusieurs mois (Levy et al. 2008). Ce dernier peut être mis en évidence dans la moelle osseuse par PCR (Poulet et al. 2003) ou par isolement sur culture cellulaire (Hofmann-Lehmann et al. 2006). Les techniques de PCR quantitative ont permis de mettre en évidence une augmentation transitoire des taux d'ARN viral, avec des taux modérés d'ADN proviral chez ces animaux (Torres et al. 2010).

La recherche du virus ou des anticorps anti-FeLV dans la moelle osseuse n'est pas systématiquement réalisée dans les études, car l'objectif de la vaccination est de protéger les animaux contre l'infection persistante. Pourtant, il existe une possibilité de ré-excrétion du virus chez les infectés latents. Il apparaît donc intéressant de connaître l'efficacité des vaccins commercialisés quant à la protection contre l'infection latente.

Conclusion

Les premiers vaccins visant à protéger les chats contre les conséquences du FeLV ont été développés dans les années 80, à partir de virus inactivés. La mise en évidence d'antigènes spécifiques du FeLV a permis la mise au point d'un vaccin sous-unité puis, grâce à l'utilisation des canarypoxvirus, la fabrication d'un vaccin recombinant non répliatif et non adjuvé. Cette évolution a notamment été motivée par la mise en cause des adjuvants vaccinaux dans l'apparition des fibrosarcomes félines.

Si l'efficacité de ces vaccins était initialement évaluée par sérologie, il est aujourd'hui établi que cette méthode ne permet pas la détection de tous les animaux infectés. En particulier, elle ne met pas en évidence les infections à des seuils réduits, contrairement aux techniques de PCR quantitative. Aussi, les études actuelles tendent à réévaluer la protection vaccinale avec les informations de la biologie moléculaire. Les résultats obtenus divergent quant à la définition de l'infection abortive. En effet, certains auteurs mettent en évidence une répliation systématique du virus suite à l'exposition. En revanche, ces techniques confirment toutes que les vaccins actuellement commercialisés ne confèrent pas d'immunité stérilisante face au virus.

A l'heure actuelle, les variations des conditions d'expérimentation et la diversité des critères retenus pour évaluer l'efficacité des vaccins Leucose rendent impossible une comparaison entre leurs performances respectives. La comparaison de l'efficacité des différents vaccins nécessiterait une étude commune aux vaccins commercialisés, incluant un nombre suffisant d'animaux, en évitant toute interférence avec la réponse immunitaire des animaux testés (groupes d'âges homogènes, absence d'immunosuppression ou d'infection intercurrente). Les critères pertinents retenus à l'issue de cette étude sont : la détection de l'antigène p27 dans le sang associé à la détection par isolement sur culture durant les 15 semaines suivant l'épreuve virulente, la quantification des taux d'ARN viral et d'ADN proviral circulants, et le diagnostic nécropsique chez les chats suspectés d'avoir développé une affection clinique liée au FeLV.

La présence d'une immunité liée à l'âge, associée à des effectifs limités, rend difficile la démonstration d'une efficacité à long terme avec des vaccins FeLV. Actuellement, les notices d'utilisation recommandent des rappels annuels, ou tous les deux ans dans le cas de Versifel®. L'association américains des praticiens en médecine féline (AAFP) suggère toutefois de généraliser les rappels tous les 2 ans chez les adultes, après le premier rappel à 1 an (Scherk et al. 2013), la décision relevant ensuite de la responsabilité du praticien.

BIBLIOGRAPHIE

ADDIE, Diane, TOTH, S., REID, S., JARRETT, O, DENNIS, J. M. et CALLANAN, J. J., 2000. Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. *The Veterinary Record*. 2000. Vol. 146, pp. 419–424.

ANDERSON, Maria M., LAURING, Adam S., BURNS, Cara C. et OVERBAUGH, Julie, 2000. Identification of a cellular cofactor required for infection by feline leukemia virus. *Science*. 2000. Vol. 287, n° 5459, pp. 1828–1830.

BESMER, P., HARDY, William D., ZUCKERMAN, Evelyn E., BERGOLD, P., LEDERMAN, L. et SNYDER, Harry W., 1983. The Hardy–Zuckerman 2-FeSV, a new feline retrovirus with oncogene homology to Abelson-MuLV. *Nature*. Juin 1983. Vol. 303, pp. 825-828.

CANEY, Sarah, 2000. Feline leukemia virus : an update. *In Practice*. 2000. Vol. July/August, pp. 397-401.

CARMICHAEL, K. P., BIENZLE, D. et MCDONNELL, J. J., 2002. Feline leukemia virus-associated myelopathy in cats. *Veterinary Pathology Online*. 2002. Vol. 39, n° 5, pp. 536–545.

CHARREYRE C et PEDERSEN NC, 1991. Study of feline leukemia virus immunity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1316-1324.

CHENG, H. H., ANDERSON, Maria M. et OVERBAUGH, Julie, 2007. Feline leukemia virus T entry is dependent on both expression levels and specific interactions between cofactor and receptor. *Virology*. 2007. Vol. March 1, n° 359 (1), pp. 170-178.

COFFIN, John M., HUGHES, Stephen H. et VARMUS, Harold E. (éd.), 1997. *Retroviruses* [en ligne]. Cold Spring Harbor (NY) : Cold Spring Harbor Laboratory Press. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19376/NBK19376>

COFFIN, John M., 1979. Structure, replication, and recombination of retrovirus genomes: some unifying hypotheses. *Journal of General Virology*. 1979. Vol. 42, n° 1, pp. 1–26.

COTTER, S. M., 1991. Management of healthy feline leukemia virus-positive cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1470-1473.

CUNNINGHAM, Mark W., BROWN, Meredith A., SHINDLE, David B., TERRELL, Scott P., HAYES, Kathleen A., FERREE, Bambi C., MCBRIDE, R. T., BLANKENSHIP, Emmett L., JANSEN, Deborah, CITINO, Scott B. et OTHERS, 2008. Epizootiology and management of feline leukemia virus in the Florida puma. *Journal of wildlife diseases*. 2008. Vol. 44, n° 3, pp. 537.

- DANIELS, M. J., GOLDBER, M. C., JARRETT, O. et MACDONALD, D. W., 1999. Feline Viruses in Wildcats from Scotland. *Journal of Wildlife Diseases*. janvier 1999. Vol. 35, n° 1, pp. 121-124.
- DIEHL, LJ et HOOVER, E. A., 1992. Early and progressive helper T-cell dysfunction. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndroms*. 1992. Vol. 5, n° 12, pp. 1188-94.
- DONAHUE, Peter R., HOOVER, E. A., BELTZ, G. A., RIEDEL, N., HIRSCH, V. M., OVERBAUGH, J. et MULLINS, J. I., 1988. Strong sequence conservation among horizontally transmissible, minimally pathogenic feline leukemia viruses. *Journal of virology*. 1988. Vol. 62, n° 3, pp. 722–731.
- EL GARCH, Hanane, RICHARD, Stephanie, PIRAS, Fabienne, LEARD, Tim, POULET, Herve, ANDREONI, Christine et JUILLARD, Veronique, 2006. Feline Leukemia Virus (FeLV)-Specific IFN γ + T-Cell Responses Are Induced in Cats Following Transdermal Vaccination With a Recombinant FeLV Vaccine. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 2006. Vol. 4, n° 2, pp. 100.
- ESSEX, M., SLISKI, A., HARDY, W. D. et COTTER, S. M., 1976. Immune response to leukemia virus and tumor-associated antigens in cats. *Cancer research*. 1976. Vol. 36, n° 2 Part 2, pp. 640–645.
- ESSEX, Myrion, KLEIN, George, SNYDER, Stanley P. et HARROLD, J. Boyd, 1971. Correlation between humoral antibody and regression of tumors induced by feline sarcoma virus.pdf. *Nature*. 1971. Vol. 223, pp. 195-196.
- FLYNN, J. N., DUNHAM, S. P., WATSON, V. et JARRETT, O., 2002. Longitudinal Analysis of Feline Leukemia Virus-Specific Cytotoxic T Lymphocytes: Correlation with Recovery from Infection. *Journal of Virology*. 1 mars 2002. Vol. 76, n° 5, pp. 2306-2315.
- FLYNN, J. N., HANLON, L. et JARRETT, O., 2000. Feline leukaemia virus: protective immunity is mediated by virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology*. 2000. Vol. 101, n° 1, pp. 120–125.
- FRANCHIMONT, D, 2004. Overview of the Actions of Glucocorticoids on the Immune Response: A Good Model to Characterize New Pathways of Immunosuppression for New Treatment Strategies. *Annals of the New York Academy of Sciences*. juin 2004. Vol. 1024, n° 1, pp. 124-137.
- FRANCIS, DONALD P., ESSEX, M. et GAYZAGIAN, DAWN, 1979. Feline leukemia virus: survival under home and laboratory conditions. *Journal of clinical microbiology*. 1979. Vol. 9, n° 1, pp. 154–156.
- FRANCIS, D. P., ESSEX, M. et HARDY, W. D., 1977. Excretion of feline leukaemia virus by naturally infected pet cats. *Nature*. 15 septembre 1977. Vol. 269, n° 5625, pp. 252-254.
- GALLAGHER, R. E., SCHRECKER, A. W., WALTER, C. A. et GALLO, R. C., 1978. Oncornavirus lytic activity in the serum of gibbon apes. *Journal of the National Cancer Institute*. 1978. Vol. 60, n° 3, pp. 677–682.

GLICK, Alan D., HORN, Robert G. et HOLSCHER, M., 1978. Characterization of feline glomerulonephritis associated with viral-induced hematopoietic neoplasms. *The American journal of pathology*. 1978. Vol. 92, n° 2, pp. 321.

GOLDKAMP, Carrie E., LEVY, Julie K., EDINBORO, Charlotte H. et LACHTARA, Jessica L., 2008. Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats with abscesses or bite wounds and rate of veterinarian compliance with current guidelines for retrovirus testing. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2008. Vol. 232, n° 8, pp. 1152–1158.

GOMES-KELLER, M. A., GÖNCZI, E., TANDON, R., RIONDATO, F., HOFMANN-LEHMANN, R., MELI, M. L. et LUTZ, H., 2006. Detection of Feline Leukemia Virus RNA in Saliva from Naturally Infected Cats and Correlation of PCR Results with Those of Current Diagnostic Methods. *Journal of Clinical Microbiology*. mars 2006. Vol. 44, n° 3, pp. 916-922.

GOMES-KELLER, M, TANDON, R, GONCZI, E, MELI, M, HOFMANNLEHMANN, R et LUTZ, H, 2006. Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. *Veterinary Microbiology*. 10 janvier 2006. Vol. 112, n° 1, pp. 11-21.

GRANT, Chris K., ESSEX, M., GARDNER, M. B. et HARDY, W. D., 1980. Natural feline leukemia virus infection and the immune response of cats of different ages. *Cancer Research*. 1980. Vol. 40, n° 3, pp. 823–829.

GROSENBAUGH, D. A., LEARD, T., PARDO, M. C., MOTES-KREIMEYER, L. et ROYSTON, M., 2004. Comparison of the safety and efficacy of a recombinant feline leukemia virus (FeLV) vaccine delivered transdermally and an inactivated FeLV vaccine delivered subcutaneously. *Vet Ther*. 2004. Vol. 5, n° 4, pp. 258–62.

GROSENBAUGH, Deborah A., LEARD, Tim et PARDO, M. Camila, 2006. Protection from challenge following administration of a canarypox virus–vectored recombinant feline leukemia virus vaccine in cats previously vaccinated with a killed virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2006. Vol. 228, n° 5, pp. 726–727.

GUEGUEN, S., SAUNIER, D., MÄHL, P., AUBERT, A. et MARTIN, V., 2000. Safety and efficacy of a recombinant FeLV vaccine combined with a live feline rhinotracheitis, calicivirus and panleukopenia vaccine. *Veterinary record*. 2000. Vol. 146, n° 13, pp. 380-381.

HAFFER, Keith N., KOERTJE, William D., DERR, James T. et BECKENHAUER, William H., 1990. Evaluation of immunosuppressive effect and efficacy of an improved-potency feline leukaemia vaccine. *Vaccine*. février 1990. Vol. 8, n° 1, pp. 12-16.

HARBOUR, D. A., GUNN-MOORE, D. A., GRUFFYDD-JONES, T. J., CANEY, S. M. A., BRADSHAW, J., JARRETT, O. et WISEMAN, A., 2002. Protection against oronasal challenge with virulent feline leukaemia virus lasts for at least 12 months following a primary course of immunisation with Leukocell™ 2 vaccine. *Vaccine*. 2002. Vol. 20, n° 23, pp. 2866–2872.

HARDY, W. D., HESS, P. W., ESSEX, M., COTTLER, S. M., MAC EWEN, E. G; et HAYES, A. A., 1976. Prevention of the contagious spread of the feline leukemia virus between pet cats. *Nature*. 1976. Vol. 263, n° Septembre 23, pp. 326-328.

HARDY, William D., HESS, Paul W., MACEWEN, E. Gregory, MCCLELLAND, Alexander J., ZUCKERMAN, Evelyn E., ESSEX, Myron, COTTER, Susan M. et JARRETT, Oswald, 1976. Biology of feline leukemia virus in the natural environment. *Cancer research*. 1976. Vol. 36, n° 2 Part 2, pp. 582–588.

HARTMANN, Katrin, 2011. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. octobre 2011. Vol. 143, n° 3-4, pp. 190-201.

HARTMANN, Katrin, 2012. Feline Leukemia Virus Infection. In : GREENE, Craig E., *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th Edition.

HARTMANN, Katrin, 2015. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats What does the current literature tell us? *Journal of feline medicine and surgery*. 2015. Vol. 17, n° 11, pp. 925–939.

HARTMANN, K, GRIESSMAYR, P, SCHULZ, B, GREENE, C, VIDYASHANKAR, A, JARRETT, O et EGBERINK, H, 2007. Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *Journal of Feline Medicine & Surgery*. décembre 2007. Vol. 9, n° 6, pp. 439-445.

HAWKS, D. M., LEGENDRE, A. M., ROHRBACH, B. W., SEBRING, R., CHAVEZ, L., CHU, H. J. et ACREE, W. M., 1991. Antibody response of kittens after vaccination followed by exposure to feline leukemia virus-infected cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1463-1469.

HAYES, K. A., ROJKO, J. L., TARR, M. J., POLAS, P. J., OLSEN, R. G. et MATHES, L. E., 1989. Atypical localised viral expression in a cat with feline leukaemia. *The Veterinary Record*. 1 avril 1989. Vol. 124, n° 13, pp. 344-346.

HELPER-HUNGERBUEHLER, A. Katrin, WIDMER, Stefan, KESSLER, Yvonne, RIOND, Barbara, BORETTI, Felicitas S., GREST, Paula, LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2015. Long-term follow up of feline leukemia virus infection and characterization of viral RNA loads using molecular methods in tissues of cats with different infection outcomes. *Virus Research*. février 2015. Vol. 197, pp. 137-150.

HINES, D. L., CUTTING, J. A., DIETRICH, D. L. et WALSH, J. A., 1991. Evaluation of efficacy and safety of an inactivated virus vaccine against feline leukemia virus infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1428-1430.

HISASUE, Masaharu, NAGASHIMA, Naho, NISHIGAKI, Kazuo, FUKUZAWA, Isao, URA, Shigeyoshi, KATAE, Hiromi, TSUCHIYA, Ryo, YAMADA, Takatsugu, HASEGAWA, Atsuhiko et TSUJIMOTO, Hajime, 2009. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. *International Journal of Cancer*. 1 mars 2009. Vol. 124, n° 5, pp. 1133-1141.

HOFFMANN-FEZER, G, 1996. Comparison of T-cell subpopulations in cats naturally infected with feline leukaemia virus or feline immunodeficiency virus. *Research in Veterinary Science*. 1996. Vol. 61, n° 3, pp. 222-226.

HOFMANN-LEHMANN, Regina, CATTORI, Valentino, TANDON, Ravi, BORETTI, Felicitas S., MELI, Marina L., RIOND, Barbara et LUTZ, Hans, 2008. How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mai 2008. Vol. 123, n° 1-2, pp. 119-123.

HOFMANN-LEHMANN, Regina, CATTORI, Valentino, TANDON, Ravi, BORETTI, Felicitas S., MELI, Marina L., RIOND, Barbara, PEPIN, Andrea C., WILLI, Barbara, OSSENT, Pete et LUTZ, Hans, 2007. Vaccination against the feline leukaemia virus: Outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine*. juillet 2007. Vol. 25, n° 30, pp. 5531-5539.

HOFMANN-LEHMANN, Regina, HUDER, Jon B., GRUBER, Sabine, BORETTI, Felicitas, SIGRIST, Brigitte et LUTZ, Hans, 2001. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *Journal of General Virology*. 2001. Vol. 82, n° 7, pp. 1589–1596.

HOFMANN-LEHMANN, Regina, LEVY, Laura S. et WILLETT, Brian J., 2015. Comparing the efficacy of FeLV vaccines. *Vaccine*. juin 2015. Vol. 33, n° 24, pp. 2737-2738.

HOFMANN-LEHMANN, R, TANDON, R, BORETTI, F, MELI, M, WILLI, B, CATTORI, V, GOMESKELLER, M, OSSENT, P, GOLDBERGER, M et FLYNN, J, 2006. Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. *Vaccine*. 20 février 2006. Vol. 24, n° 8, pp. 1087-1094.

HOOVER, E. A., SCHALLER, J. P., MATHES, L. E. et OLSEN, R. G., 1977. Passive immunity to feline leukemia: evaluation of immunity from dams naturally infected and experimentally vaccinated. *Infection and immunity*. 1977. Vol. 16, n° 1, pp. 54–59.

HOOVER, Edward A., OLSEN, Richard G., HARDY, William D., SCHALLER, Joseph P. et MATHES, Lawrence E., 1976. Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection. *Journal of the National Cancer Institute*. 1976. Vol. 57, n° 2, pp. 365–369.

HOOVER, Edward A., ROJKO, Jennifer L., WILSON, Pamela L. et OLSEN, Richard G., 1981. Determinants of susceptibility and resistance to feline leukemia virus infection. I. Role of macrophages. *Journal of the National Cancer Institute*. 1981. Vol. 67, n° 4, pp. 889–898.

JARRETT, O. et GANIERE, J. P., 1996. Comparative studies of the efficacy of a recombinant feline leukaemia virus vaccine. *The Veterinary record*. 6 janvier 1996. Vol. 138, n° 1, pp. 7-11.

JARRETT, O., LAIRD, Helen M. et HAY, D., 1973. Determinants of the host range of feline leukaemia viruses. *Journal of General Virology*. 1973. Vol. 20, n° 2, pp. 169–175.

JARRETT, Oswald, HARDY, William D., GOLDBERGER, Matthew C. et HAY, David, 1978. The frequency of occurrence of feline leukaemia virus subgroups in cats. *International Journal of Cancer*. 1978. Vol. 21, n° 3, pp. 334–337.

JARRETT, W. F., CRAWFORD, E. M., MARTIN, W. B. et DAVIE, F., 1964. A Virus-like particle associated with leukemia (lymphosarcoma). *Nature*. 9 mai 1964. Vol. 202, pp. 567-569.

- JARRETT, William, JARRETT, Oswald, MACKEY, Lindsay, LAIRD, Helen, HOOD, Christine et HAY, David, 1975. Vaccination against feline leukaemia virus using a cell membrane antigen system. *International Journal of Cancer*. 1975. Vol. 16, n° 1, pp. 134–141.
- JARRETT, W., 1972. Feline leukaemia. *Journal of Clinical Pathology*. 1972. Vol. 3, n° 1, pp. 43–45.
- JIRJIS, Faris F., DAVIS, Tamara, LANE, Jennifer, CARRITT, Kari, SWEENEY, Diane, WILLIAMS, James et WASMOEN, Terri, 2010. Protection against feline leukemia virus challenge for at least 2 years after vaccination with an inactivated feline leukemia virus vaccine. *Veterinary Therapeutics*. 2010. Vol. 11, n° 2, pp. E1-E6.
- KIPAR, A., KREMENDAHL, J., JACKSON, M. L. et REINACHER, M., 2001. Comparative examination of cats with feline leukemia virus-associated enteritis and other relevant forms of feline enteritis. *Veterinary Pathology Online*. 2001. Vol. 38, n° 4, pp. 359–371.
- KOBILINSKY, L, HARDY, W. D., ELLIS, R., WITKIN, S. S. et DAY, N. K., 1980. In vitro activation of feline complement by feline leukemia virus.pdf. *Infection and immunity*. 1980. Vol. 29, n° 1, pp. 165-170.
- KOHN, Barbara, WEINGART, Christiane, ECKMANN, Vera, OTTENJANN, Mareike et LEIBOLD, Wolfgang, 2006. Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia in 19 Cats: Diagnosis, Therapy, and Outcome (1998–2004). *Journal of veterinary internal medicine*. 2006. Vol. 20, n° 1, pp. 159–166.
- LAFRADO, L. J., 1994. Evaluation of a feline leukemia virus vaccine in a controlled natural transmission study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 mars 1994. Vol. 204, n° 6, pp. 914-917.
- LAURING, A. S., CHENG, H. H., EIDEN, M. V. et OVERBAUGH, J., 2002. Genetic and Biochemical Analyses of Receptor and Cofactor Determinants for T-Cell-Tropic Feline Leukemia Virus Infection. *Journal of Virology*. 15 août 2002. Vol. 76, n° 16, pp. 8069-8078.
- LEGENDRE, A. M., HAWKS, D. M., SEBRING, R., ROHRBACH, B., CHAVEZ, L., CHU, H. J. et ACREE, W. M., 1991. Comparison of the efficacy of three commercial feline leukemia virus vaccines in a natural challenge exposure. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1456-1462.
- LEVY, J, CRAWFORD, C, HARTMANN, K, HOFMANNLEHMANN, R, LITTLE, S, SUNDAHL, E et THAYER, V, 2008. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. *Journal of Feline Medicine & Surgery*. juillet 2008. Vol. 10, n° 3, pp. 300-316.
- LEVY, Julie K. et CRAWFORD, P. Cynda, 2000. Feline Leukemia Virus. In : *Ettinger, S.J., Feldman, E.C., Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Philadelphia : WB Saunders.
- LEVY, Julie K., SCOTT, H. Morgan, LACHTARA, Jessica L. et CRAWFORD, P. Cynda, 2006a. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 31 janvier 2006. Vol. 228, n° 3, pp. 371-376.

LEVY, Julie K., SCOTT, H. Morgan, LACHTARA, Jessica L. et CRAWFORD, P. Cynda, 2006b. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2006. Vol. 228, n° 3, pp. 371–376.

LEWIS, Mark G., MATHES, Lawrence E. et OLSEN, Richard G., 1981. Protection against feline leukemia by vaccination with a subunit vaccine. *Infection and immunity*. décembre 1981. Vol. 34, n° 3, pp. 888-894.

LINENBERGER, Michael L. et DENG, Ta, 1999. The effects of feline retroviruses on cytokine expression. *Veterinary immunology and immunopathology*. 1999. Vol. 72, n° 3, pp. 343–368.

LÖWENBERG, Mark, VERHAAR, Auke P., VAN DEN BRINK, Gijs R. et HOMMES, Daniel W., 2007. Glucocorticoid signaling: a nongenomic mechanism for T-cell immunosuppression. *Trends in Molecular Medicine*. avril 2007. Vol. 13, n° 4, pp. 158-163.

LUACES, Inés, DOMÉNECH, Ana, GARCÍA-MONTIJANO, Marino, COLLADO, Victorio M., SÓNCHÉZ, Celia, TEJERIZO, J. German, GALKA, Margarita, FERNÓNDEZ, Pilar et GÓMEZ-LUCÍA, Esperanza, 2008. Detection of Feline leukemia virus in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 2008. Vol. 20, n° 3, pp. 381–385.

LUTZ, Hans, ADDIE, Diane, BELÁK, Sándor, BOUCRAUT-BARALON, Corine, EGBERINK, Herman, FRYMUS, Tadeusz, GRUFFYDD-JONES, Tim, HARTMANN, Katrin, HOSIE, Margaret J., LLORET, Albert, MARSILIO, Fulvio, PENNISI, Maria Grazia, RADFORD, Alan D., THIRY, Etienne, TRUYEN, Uwe et HORZINEK, Marian C., 2009. Feline leukaemia. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. juillet 2009. Vol. 11, n° 7, pp. 565-574.

LUTZ, Hans et MÖSTL, Karin, 2015. Feline leukaemia. *European Advisory Board on Cat Diseases* [en ligne]. Décembre 2015. [Consulté le 15 février 2016]. Disponible à l'adresse : <http://www.abcdcatsvets.org/feline-leukaemia-def/>

LUTZ, Hans, PEDERSEN, Niels, HIGGINS, Joanne, HÜBSCHER, Ulrich, TROY, Frederic A. et THEILEN, Gordon H., 1980. Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigens in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Cancer Research*. 1980. Vol. 40, n° 10, pp. 3642–3651.

MELI, Marina L., CATTORI, Valentino, MARTÍNEZ, Fernando, LÓPEZ, Guillermo, VARGAS, Astrid, PALOMARES, Francisco, LÓPEZ-BAO, José V., HOFMANN-LEHMANN, Regina et LUTZ, Hans, 2010. Feline leukemia virus infection: A threat for the survival of the critically endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mars 2010. Vol. 134, n° 1-2, pp. 61-67.

MITCHELL, T. W., ROJKO, J. L., HARTKE, J. R., MIHAJLOV, A. R., KASAMEYER, G. A., GASPER, P. W. et WHALEN, L. R., 1997. FeLV envelope protein (gp70) variable region 5 causes alterations in calcium homeostasis and toxicity of neurons. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology: Official Publication of the International Retrovirology Association*. 1 avril 1997. Vol. 14, n° 4, pp. 307-320.

MIYAZAWA, T. et JARRETT, O., 1997. Feline leukaemia virus proviral DNA detected by polymerase chain reaction in antigenaemic but non-viraemic ('discordant') cats. *Archives of Virology*. 1997. Vol. 142, n° 2, pp. 323-332.

MURPHY, F. A., GIBBS, E. P. J., HORZINEK, M. C. et STUDDERT, M. J., 1999. *Veterinary virology. 3rd edition. 3° EDITION*. London [gbr] : Academic Press.

NESINA, Stefanie, KATRIN HELFER-HUNGERBUEHLER, A., RIOND, Barbara, BORETTI, Felicitas S., WILLI, Barbara, MELI, Marina L., GREEST, Paula et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2015. Retroviral DNA—the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats. *Retrovirology*. décembre 2015. Vol. 12, n° 1.

OLSEN, Richard G., HOOVER, Edward A., MATHES, Larry E., HEDING, Linda et SCHALLER, Joseph P., 1976. Immunization against feline oncornavirus disease using a killed tumor cell vaccine. *Cancer research*. 1976. Vol. 36, n° 10, pp. 3642–3646.

OVERBAUGH, J., DONAHUE, P. R., QUACKENBUSH, S. L., HOOVER, E. A. et MULLINS, J. I., 1988. Molecular cloning of a feline leukemia virus that induces fatal immunodeficiency disease in cats. *Science (New York, N.Y.)*. 19 février 1988. Vol. 239, n° 4842, pp. 906-910.

PACITTI, A. M., JARRETT, O. et HAY, D., 1986. Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. *The Veterinary Record*. 5 avril 1986. Vol. 118, n° 14, pp. 381-384.

PATEL, M., CARRITT, K., LANE, J., JAYAPPA, H., STAHL, M. et BOURGEOIS, M., 2015. Comparative Efficacy of Feline Leukemia Virus (FeLV) Inactivated Whole-Virus Vaccine and Canarypox Virus-Vectored Vaccine during Virulent FeLV Challenge and Immunosuppression. *Clinical and Vaccine Immunology*. juillet 2015. Vol. 22, n° 7, pp. 798-805.

PEDERSEN, N. C. et JOHNSON, L., 1991. Comparative efficacy of three commercial feline leukemia virus vaccines against methylprednisolone acetate-augmented oronasal challenge exposure with virulent virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1453-1455.

PEDERSEN, NIELS C., JOHNSON, L. et THEILEN, G. H., 1984. Biological behavior of tumors and associated retroviremia in cats inoculated with Snyder-Theilen fibrosarcoma virus and the phenomenon of tumor recurrence after primary regression. *Infection and immunity*. 1984. Vol. 43, n° 2, pp. 631–636.

PEDERSEN, Niels C., 1993. Immunogenicity and efficacy of a commercial feline leukemia virus vaccine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1993. Vol. 7, n° 1, pp. 34–39.

PEPIN, Andrea C., TANDON, Ravi, CATTORI, Valentino, NIEDERER, Eva, RIOND, Barbara, WILLI, Barbara, LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2007. Cellular segregation of feline leukemia provirus and viral RNA in leukocyte subsets of long-term experimentally infected cats. *Virus Research*. juillet 2007. Vol. 127, n° 1, pp. 9-16.

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 8.0, 2013. Vaccin inactivé de la leucose féline. . avril 2013. pp. 1019-1020.

POLLOCK, V. H. et HAFFER, K. N., 1991. Review of the first feline leukemia virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1406-1409.

POOL, R. R. et CARRIG, C. B., 1972. Multiple cartilaginous exostoses in a cat. *Veterinary Pathology Online*. 1972. Vol. 9, n° 5, pp. 350–359.

POULET, H., BRUNET, S., BOULARAND, C., GUIOT, A. L., LEROY, V., TARTAGLIA, J. et MINKE, J., 2003. Efficacy of virus-vectored vaccine against feline leukaemia. *Veterinary record*. 2003. Vol. 153, pp. 141–145.

POULET, Hervé, THIBAUT, Jean-Christophe et MASIAS, Alonso, 2015. Immunosuppression in a Comparative Study of Feline Leukemia Virus Vaccines. *Clinical and Vaccine Immunology*. décembre 2015. Vol. 22, n° 12, pp. 1294-1295.

RIGBY, M. A., ROJKO, J. L., STEWART, M. A., KOCIBA, G. J., CHENEY, C. M., REZANKA, L. J., MATHES, L. E., HARTKE, J. R., JARRETT, O. et NEIL, J. C., 1992. Partial dissociation of subgroup C phenotype and in vivo behaviour in feline leukaemia viruses with chimeric envelope genes. *The Journal of General Virology*. novembre 1992. Vol. 73 (Pt 11), pp. 2839-2847.

ROJKO, Jennifer L., HOOVER, Edward A., MATHES, Lawrence E., KRAKOWKA, Steven et OLSEN, Richard G., 1979. Influence of adrenal corticosteroids on the susceptibility of cats to feline leukemia virus infection. *Cancer research*. 1979. Vol. 39, n° 9, pp. 3789–3791.

ROJKO, Jennifer L., HOOVER, Edward A., MATHES, Lawrence E., OLSEN, Richard G. et SCHALLER, Joseph P., 1979. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. *Journal of the National Cancer Institute*. 1979. Vol. 63, n° 3, pp. 759–768.

ROJKO, Jennifer L., HOOVER, Edward A., QUACKENBUSH, Sandra L. et OLSEN, Richard G., 1982. Reactivation of latent feline leukemia virus infection.pdf. *Nature*. 1982. Vol. 298, pp. 385-388.

ROJKO, J. L. et KOCIBA, G. J., 1991. Pathogenesis of infection by the feline leukemia virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1305-1310.

ROJKO, J. L. et OLSEN, R. G., 1984. The Immunobiology Of The Feline Leukemia Virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1984. N° 6, pp. 107-165.

RUSSELL, Peter H. et JARRETT, Oswald, 1978. The specificity of neutralizing antibodies to feline leukaemia viruses. *International Journal of Cancer*. 1978. Vol. 21, pp. 768-778.

SCHERK, Margie A., FORD, Richard B., GASKELL, Rosalind M., HARTMANN, Katrin, HURLEY, Kate F., LAPPIN, Michael R., LEVY, Julie K., LITTLE, Susan E., NORDONE, Shila K. et SPARKES, Andrew H., 2013. 2013 AAFP Feline Vaccination Advisory Panel Report. *Journal of feline medicine and surgery*. 2013. Vol. 15, n° 9, pp. 785–808.

SLEEMAN, Jonathan M., KEANE, Jennifer M., JOHNSON, Jeremy S., BROWN, Rebecca J. et WOUDE, Sue Vande, 2001. Feline Leukemia Virus in a Captive Bobcat. *Journal of Wildlife Diseases*. janvier 2001. Vol. 37, n° 1, pp. 194-200.

SNYDER, Harry W., SINGHAL, Mitra C., ZUCKERMAN, Evelyn E., JONES, Frank R. et HARDY, William D., 1983. The feline oncornavirus-associated cell membrane antigen (FOCMA) is related to, but distinguishable from, FeLV-C gp70. *Virology*. 1983. Vol. 131, n° 2, pp. 315–327.

SNYDER, Harry W., 1985. Quantitation of specific antibodies bound to feline leukemia virus in the plasma of pet cats.pdf. *Molecular Immunology*. 1985. Vol. 22, n° 8, pp. 863-870.

SOE, L. Hokama, DEVI, B. GAYATHRI, MULLINS, J. I. et ROY-BURMAN, P., 1983. Molecular cloning and characterization of endogenous feline leukemia virus sequences from a cat genomic library. *Journal of virology*. 1983. Vol. 46, n° 3, pp. 829–840.

SOE, LISA HOKAMA, SHIMIZU, ROBERT W., LANDOLPH, JOSEPH R. et ROY-BURMAN, PRADIP, 1985. Molecular analysis of several classes of endogenous feline leukemia virus elements. *Journal of virology*. 1985. Vol. 56, n° 3, pp. 701–710.

SPARKES, A. H., 1997. Feline leukaemia virus: a review of immunity and vaccination. *The Journal of Small Animal Practice*. mai 1997. Vol. 38, n° 5, pp. 187-194.

SPARKES, A, 2003. Feline leukaemia virus and vaccination. *Journal of Feline Medicine & Surgery*. avril 2003. Vol. 5, n° 2, pp. 97-100.

STEWART, H., JARRETT, O., HOSIE, M.J. et WILLETT, B.J., 2011. Are endogenous feline leukemia viruses really endogenous? *Veterinary Immunology and Immunopathology*. octobre 2011. Vol. 143, n° 3-4, pp. 325-331.

STEWART, Monica A., WARNOCK, M., WHEELER, A., WILKIE, N., MULLINS, J. I., ONIONS, D. E. et NEIL, J. C., 1986. Nucleotide sequences of a feline leukemia virus subgroup A envelope gene and long terminal repeat and evidence for the recombinational origin of subgroup B viruses. *Journal of virology*. 1986. Vol. 58, n° 3, pp. 825–834.

STILES, Jean, 2014. Ocular manifestations of feline viral diseases. *The Veterinary Journal*. août 2014. Vol. 201, n° 2, pp. 166-173.

STUKE, K., KING, V., SOUTHWICK, K., STOEVA, M.I., THOMAS, A. et WINKLER, M.T., 2015. In response to Letter to the Editor (Regina Hofmann-Lehmann, Laura S. Levy and Brian Willett)—Comparing the efficacy of FeLV vaccines. *Vaccine*. juin 2015. Vol. 33, n° 24, pp. 2739-2740.

STUKE, Kristin, KING, Vickie, SOUTHWICK, Kendra, STOEVA, Mira I., THOMAS, Anne et WINKLER, M. Teresa C., 2014. Efficacy of an inactivated FeLV vaccine compared to a recombinant FeLV vaccine in minimum age cats following virulent FeLV challenge. *Vaccine*. mai 2014. Vol. 32, n° 22, pp. 2599-2603.

STÜTZER, Bianca, SIMON, Karin, LUTZ, Hans, MAJZOUB, Monir, HERMANN, Walter, HIRSCHBERGER, Johannes, SAUTER-LOUIS, Carola et HARTMANN, Katrin, 2011. Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma. *Journal of Feline Medicine & Surgery*. février 2011. Vol. 13, n° 2, pp. 81-87.

STÜTZER, B., MÜLLER, F., MAJZOUB, M., LUTZ, H., GREENE, C.E., HERMANN, W. et HARTMANN, K., 2010. Role of Latent Feline Leukemia Virus Infection in Nonregenerative

Cytopenias of Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. janvier 2010. Vol. 24, n° 1, pp. 192-197. DOI 10.1111/j.1939-1676.2009.0417.x.

TANDON, Ravi, CATTORI, Valentino, GOMES-KELLER, Maria Alice, MELI, Marina L., GOLDBERGER, Matthew C., LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2005. Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan® real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*. décembre 2005. Vol. 130, n° 1-2, pp. 124-132.

TANDON, Ravi, CATTORI, Valentino, PEPIN, Andrea C., RIOND, Barbara, MELI, Marina L., MCDONALD, Mike, DOHERR, Marcus G., LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2008. Association between endogenous feline leukemia virus loads and exogenous feline leukemia virus infection in domestic cats. *Virus Research*. juillet 2008. Vol. 135, n° 1, pp. 136-143.

TANDON, Ravi, CATTORI, Valentino, WILLI, Barbara, LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2008. Quantification of endogenous and exogenous feline leukemia virus sequences by real-time PCR assays. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mai 2008. Vol. 123, n° 1-2, pp. 129-133.

TANDON, Ravi, CATTORI, Valentino, WILLI, Barbara, MELI, Marina L., GOMES-KELLER, Maria A., LUTZ, Hans et HOFMANN-LEHMANN, Regina, 2007. Copy number polymorphism of endogenous feline leukemia virus-like sequences. *Molecular and Cellular Probes*. août 2007. Vol. 21, n° 4, pp. 257-266.

TARTAGLIA, J, JARRETT, O, NEIL, J C, DESMETTRE, P et PAOLETTI, E, 1993. Protection of cats against feline leukemia virus by vaccination with a canarypox virus recombinant, ALVAC-FL. *Journal of Virology*. avril 1993. Vol. 67, n° 4, pp. 2370-2375.

TENORIO, Aurea Pascal, FRANTI, Charles E., MADEWELL, Bruce R. et PEDERSEN, Niels C., 1991. Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. *Veterinary immunology and immunopathology*. 1991. Vol. 29, n° 1-2, pp. 1-14.

TIZARD, I. et BASS, E. P., 1991. Evaluation of a killed, whole virion feline leukemia virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1410-1413.

TOMPKINS, M. B., NELSON, P. D., ENGLISH, R. V. et NOVOTNEY, C., 1991. Early events in the immunopathogenesis of feline retrovirus infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1311-1315.

TORRES, Andrea N., MATHIASON, Candace K. et HOOVER, Edward A., 2005. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology*. février 2005. Vol. 332, n° 1, pp. 272-283.

TORRES, Andrea N., O'HALLORAN, Kevin P., LARSON, Laurie J., SCHULTZ, Ronald D. et HOOVER, Edward A., 2010. Feline leukemia virus immunity induced by whole inactivated virus vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mars 2010. Vol. 134, n° 1-2, pp. 122-131.

TSATSANIS, Christos, FULTON, Ruth, NISHIGAKI, Kazuo, TSUJIMOTO, Hajime, LEVY, Laura, TERRY, Anne, SPANDIDOS, Demetrios, ONIONS, David et NEIL, James C., 1994. Genetic determinants of feline leukemia virus-induced lymphoid tumors: patterns of proviral insertion and gene rearrangement. *Journal of virology*. 1994. Vol. 68, n° 12, pp. 8296–8303.

VEDBRAT, Sharanjit S., RASHEED, Suraiya, LUTZ, Hans, GONDA, Matthew A., RUSCETTI, Sandra, GARDNER, M. B. et PRENSKY, Wolf, 1983. Feline oncornavirus-associated cell membrane antigen a viral and not cellularly encoded transformation-specific antigen of cat lymphocytes. *Virology*. 1983. N° 124, pp. 445-461.

VOBIS, M., D'HAESE, J., MEHLHORN, H. et MENCKE, N., 2003. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research*. décembre 2003. Vol. 91, n° 6, pp. 467-470.

WEIJER, Kees, UYTDEHAAG, Fons GCM, JARRETT, Oswald, LITZ, Hans et OSTERHAUS, Albert DME, 1986. Post-exposure treatment with monoclonal antibodies in a retrovirus system: Failure to protect cats against feline leukemia virus infection with virus neutralizing monoclonal antibodies. *International journal of cancer*. 1986. Vol. 38, n° 1, pp. 81–87.

WILLETT, Brian J. et HOSIE, Margaret J., 2013. Feline leukaemia virus: Half a century since its discovery. *The Veterinary Journal*. janvier 2013. Vol. 195, n° 1, pp. 16-23.

WILSON, Stephen, GREENSLADE, Juliet, SAUNDERS, Gillian, HOLCROFT, Catherine, BRUCE, Lynn, SCOBAY, Andy, CHILDERS, Tedd, STURE, Gordon et THOMPSON, James, 2012. Difficulties in demonstrating long term immunity in FeLV vaccinated cats due to increasing age-related resistance to infection. *BMC veterinary research*. 2012. Vol. 8, n° 1, pp. 1.

YORK, S. M. et YORK, C. J., 1991. Development of a whole killed feline leukemia virus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1991. Vol. 199, n° 10, pp. 1419-1422.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Séverine BOULLIER, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ESPINASSE Fanny** intitulée « **Détermination des critères d'efficacité des vaccins contre la leucose féline.**» et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

**Séverine
Boullier**

Signature numérique de Séverine Boullier
DN : cn=Séverine Boullier, o=ENVT, ou=
email=s.boullier@envt.fr, c=FR
Date : 2016.07.17 23:01:32 +02:00

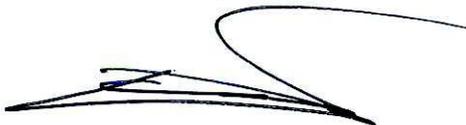
Fait à Toulouse, le 11 juillet 2016
Docteur Séverine BOULLIER
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Christophe PASQUIER



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

Toulouse, 2016

Nom : ESPINASSE

Prénom : Fanny

**Titre : DETERMINATION DES CRITERES D'EFFICACITE DES VACCINS
CONTRE LA LEUCOSE FELINE**

Les chats infectés de manière persistante par le FeLV (Virus Leucémogène Félin) développent pour la plupart anémies, lymphomes, leucémies ou syndromes d'immunodéficiência regroupés sous le nom de Leucose Féline. A ce jour, 5 vaccins sont disponibles pour les praticiens vétérinaires français. Ils permettent tous une protection des animaux contre les signes cliniques associés à l'infection persistante, mais ne confèrent pas d'immunité stérilisante contre le virus.

Les résultats de 29 études réalisées entre 1990 et 2015, visant à déterminer expérimentalement l'efficacité des vaccins Leucose ont été regroupés. Les variations importantes des conditions d'expérimentation et les biais constatés rendent difficile une comparaison de la protection apportée par les différents vaccins. Les critères pertinents retenus pour évaluer leur efficacité sont : la détection de l'antigène p27 dans le sang, la détection par isolement sur culture suivie de la quantification de l'ARN viral et de l'ADN proviral circulants durant les 15 semaines suivant l'épreuve virulente et le diagnostic nécropsique chez les chats suspectés d'avoir développé une affection clinique liée au FeLV.

L'évaluation de l'efficacité des vaccins Leucose nécessiterait une étude comparative, incluant des effectifs conformes à la Pharmacopée Européenne et dont le protocole éviterait toute interférence avec la réponse immunitaire des animaux testés.

Mots-Clés : FeLV – Leucose Féline – Chat – Vaccin – Critères – Efficacité

**Title: ESTABLISHMENT OF CRITERIA FOR ASSESSING FELINE LEUKEMIA
VIRUS VACCINES EFFICACY**

Cats persistently infected with Feline Leukemia Virus (FeLV) are at risk to develop associated diseases such as anemia, lymphoma, leukemia or immunosuppression syndrome. Five vaccines are currently available for French veterinary surgeons. Vaccination protects cats against FeLV-associated diseases, but does not confer sterilizing immunity.

Results from 29 efficacy studies published from 1990 to 2015 have been reviewed. Important differences between the studies design and experimental bias make direct comparison between studies very difficult. Relevant criteria for assessing vaccine efficacy are: p27 antigen detection in blood, infectious virus detection by isolation on cell culture and quantification of viral RNA and proviral DNA loads during the 15 weeks following challenge, and necropsy diagnosis performed on cat developing FeLV-associated disease.

Assessment of Feline Leukemia Virus vaccines efficacy would require a comparative study with sufficient number of cats according to European Pharmacopeia and avoiding immunomodulation.

Key Words: Feline Leukemia Virus – Cat – Vaccine – Criteria – Efficacy