

# LES CALICIVIRUS FÉLINS (FCV) : VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET PATHOLOGIQUE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Michel, Didier, Patrick AUGUSTYNIAK**  
Né le 09 octobre 1981 à ALES (Gard)

---

**Directeur de thèse : M. le Docteur Stéphane BERTAGNOLI**

---

## JURY

**PRESIDENT :**  
**M. Christophe PASQUIER**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

**ASSESEUR :**  
**M. Stéphane BERTAGNOLI**  
**M. Romain VOLMER**

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







MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>A. MILON</b>
Directeurs honoraires	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Professeurs honoraires	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>J. CHANTAL</b>
	M.	<b>J.-F. GUELF</b>
	M.	<b>M. ECKHOUTTE</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

---

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **CABANIÉ Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

---

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

---

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie - Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**INGENIEUR DE RECHERCHES**

---

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

---

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

## MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

---

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

---

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*  
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*  
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*  
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*  
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*  
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*  
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*  
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*  
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*  
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*  
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*  
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*  
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*  
Mme PRIYENKO Nathalie, *Alimentation*  
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*  
M. SANS Pierre, *Productions animales*  
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

---

Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*  
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*  
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*  
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

---

M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*  
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*  
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*

## **REMERCIEMENTS**

A notre jury de thèse :

**A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER**

Professeur des Universités

Patricien hospitalier

*Virologie*

qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
hommages respectueux.

**A Monsieur le Docteur Stéphane BERTAGNOLI**

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Pathologie infectieuse*

qui m'a fait l'honneur de me diriger dans l'élaboration et  
l'accomplissement de ce travail,  
qu'il trouve ici l'expression de mon plus grand respect.

**A Monsieur le Docteur Romain VOLMER**

Maître de Conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Infectiologie*

qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,  
qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

## Figure 1

### Figure 1a

### Figure 1b

### Figure 1c

## Figure 2

100



**A la mémoire de mes grands-parents.**



A mes parents dont le soutien et l'affection me sont si précieux.

A mon frère, Brice.

A Anne, pour tous les moments présents, passés et à venir.

A tous les animaux qui ont partagé ma vie.

A mes amis.



# SOMMAIRE

<b>ABREVIATIONS.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>5</b>
<b>PARTIE 1 : LA FAMILLE DES CALICIVIRIDAE.....</b>	<b>7</b>
<b>1. Taxonomie. ....</b>	<b>7</b>
1.1. L'historique de la famille.....	7
1.2. Phylogénie et classification.....	10
1.3. Le cas particulier du virus de l'hépatite E (HEV).....	12
<b>2. Le virion. ....</b>	<b>13</b>
2.1. Morphologie et structure.....	13
2.2. Composition de la particule virale.....	16
2.3. Propriétés physicochimiques.....	16
<b>3. Le génome viral.....</b>	<b>17</b>
<b>4. Le cycle viral.....</b>	<b>18</b>
4.1. Les phases précoces de l'infection.....	18
4.2. La réplication du génome viral.....	19
4.3. Les effets cytopathiques.....	20
4.4. Les protéines virales.....	22
4.4.1. Les protéines non structurales.....	22
4.4.2. Les protéines structurales.....	27
<b>PARTIE 2 : LES DIFFERENTES MANIFESTATIONS CLINIQUES ASSOCIEES A L'INFECTION PAR LES CALICIVIRUS FELINS. ....</b>	<b>31</b>
<b>1. Les manifestations cliniques classiques.....</b>	<b>31</b>
1.1 Données épidémiologiques.....	31
1.2 Affection aiguë des voies respiratoires.....	31
1.2.1 Signes cliniques et lésions induits suite à une infection expérimentale par différentes souches de FCV.....	32
1.2.2 Signes cliniques habituels d'une affection des voies respiratoires hautes causée par un FCV.....	34
1.3 Affections chroniques.....	35
1.4 Affection aiguë à dominante locomotrice.....	37
1.5 Démarche diagnostique.....	38
1.6 Prophylaxie et démarche thérapeutique.....	41
1.7 L'hétérogénéité génique et antigénique de différents FCV isolés de manifestations cliniques diverses.....	41

<b>2. La forme épizootique et hautement pathogène.....</b>	<b>42</b>
2.1. Description du déroulement des trois principales épizooties.....	42
2.1.1. La crise de 1998 au nord de la Californie : FCV-Ari.....	42
2.1.2. La crise de 2001 dans le Massachusetts (Nouvelle Angleterre) : FCV-Diva.....	46
2.1.3. La crise de 2002 au sud de la Californie : FCV-Kaos.....	48
2.2. Données épidémiologiques.....	51
2.3. Les signes cliniques.....	53
2.4. Données anatomopathologiques, immunohistochimiques et électromicroscopiques obtenues par l'étude approfondie de chats infectés naturellement par des VS-FCV.....	56
2.4.1. Aspect macroscopique.....	56
2.4.2. Histologie.....	57
2.4.3. Immunohistochimie.....	57
2.4.4. Microscopie électronique.....	57
2.5. Pathogénie.....	58
2.6. Les raisons de l'émergence des VS-FCV.....	59
2.7. Démarche thérapeutique.....	60
2.8. Recommandations en cas de crise.....	60

## **PARTIE 3 : CONSEQUENCES DE LA VARIABILITE DES FCV SUR LA VACCINATION.....63**

<b>1. L'immunisation contre les FCV.....</b>	<b>63</b>
1.1. Les premières observations.....	63
1.2. La souche F9 laisse suggérer une application vaccinale.....	63
1.3. Mise en place d'une vaccination par voie parentérale.....	64
1.4. Les bases de l'immunogénicité.....	65
<b>2. Bilan de trente années de vaccination.....</b>	<b>66</b>
2.1. Les vaccins utilisés.....	66
2.2. Le maintien d'infections aiguës et chroniques sur le terrain.....	67
2.3. Les échecs vaccinaux.....	68
2.3.1. Les réactions vaccinales.....	69
2.3.2. Les rechutes vaccinales.....	70
2.4. L'évolution des souches de terrain.....	71
2.5. L'évolution de la souche vaccinale chez l'hôte.....	72
2.6. L'apparition de souches hautement pathogènes.....	73
<b>3. Les défis et perspectives.....</b>	<b>74</b>
3.1. Les vaccins nouvelle génération appliqués à la vaccination contre le FCV.....	74
3.2. La recherche de nouvelles souches vaccinales.....	76

## **CONCLUSION.....79**

## **BIBLIOGRAPHIE.....81**

## ABREVIATIONS

ADN: acide désoxyribonucléique  
ALAT: alanine aminotransférase  
ARN: acide ribonucléique  
ASAT: aspartate aminotransférase  
BEV: *Bovine enteric calicivirus*  
BNYVV: *Beet necrotic yellow vein virus*  
CaCV: *Canine calicivirus*  
CIVD: coagulation intravasculaire disséminée  
CMH: complexe majeur d'histocompatibilité  
CPK: créatine phosphokinase  
CRFK : Crandell-Rees feline kidney  
EBHSV: *European brown hare syndrome virus*  
EIF4G: eukaryotic translation initiation factor 4 gamma  
FCV: *Feline calicivirus*  
FeIV: *Feline leukemia virus*  
FIV: *Feline immunodeficiency virus*  
FMDV: *Foot and mouth disease virus*  
HEV: *Hepatitis E virus*  
HVR: hypervariable region  
HuCV: *Human calicivirus*  
ICTV: international committee on taxonomy of viruses  
IL-10 : interleukine 10  
IFN- $\gamma$  : interféron gamma  
MP11-  $\alpha$ : macrophage inflammatory protein 1 alpha  
NV: *Norwalk virus*  
ORF: open reading frame  
PABP: poly(A)-binding protein  
PEC: *Porcine enteric calicivirus*  
PCR: polymerase chain reaction  
RHDV: *Rabbit hemorrhagic disease virus*  
RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction  
RubV: *Rubella virus*  
SMSV: *San Miguel sea lion virus*  
SRSV: *Small round structured virus*  
SHV: *Southampton virus*  
SV: *Sapporo virus*  
TNF-  $\alpha$ : Tumor necrosis factor alpha  
URTD: upper respiratory tract disease  
VES: vesicular exanthema of swine  
VESV: *Vesicular exanthema of swine virus*  
VO: voie orale  
VPg: viral protein linked to the genome  
VS-FCV: *Virulent Strain Feline calicivirus*





## INTRODUCTION

Les calicivirus félins, virus de la famille des *Caliciviridae*, occupent une place particulière en médecine vétérinaire. Ces virus font partie du quotidien du vétérinaire praticien. En effet, la valence vaccinale « calicivirus » fait partie depuis plus de vingt ans du protocole vaccinal de base en consultation féline. Cette valence assure, en association avec la valence « herpesvirus », la prévention du syndrome appelé « coryza contagieux félin ». Le calicivirus félin est de plus responsable d'une grande variété d'expressions cliniques à l'intensité très variable.

Les connaissances fondamentales sur ce virus, et même sur la famille des *Caliciviridae* dans son ensemble, ne sont pas encore suffisantes pour expliquer précisément la pathogénie du calicivirus félin. En effet, l'existence d'un grand nombre de souches de FCV (*Feline calicivirus*), avec des conséquences cliniques très diverses, suscite de nombreuses interrogations.

De plus, depuis 1998, l'émergence de nouveaux FCV, responsables d'épizooties en milieu hospitalier, a été constatée aux Etats-Unis. Ces FCV appelés VS-FCV (Virulent Strain FCV), sont d'une part extrêmement contagieux, et d'autre part associés à un cortège clinique très grave conduisant souvent à la mort. Cette émergence a conduit à de nombreuses études sur les FCV afin d'expliquer ou du moins de mieux comprendre comment de telles souches peuvent apparaître.

Nous ferons dans une première partie le point sur les connaissances actuelles sur la famille des *Caliciviridae*. Nous verrons ensuite les différentes manifestations cliniques générées par les FCV, en s'attachant tout particulièrement aux formes épizootiques hautement pathogènes. Enfin, nous étudierons l'impact de la grande variabilité des calicivirus sur la mise en place d'une vaccination efficace.



# PARTIE 1 : LA FAMILLE DES CALICIVIRIDAE.

## 1. Taxonomie.

### 1.1. L'historique de la famille.

La création de la famille des *Caliciviridae* a nécessité de nombreuses années d'études [20, 74].

La première maladie attribuée à un calicivirus fut documentée en 1932 aux Etats-Unis d'Amérique. Il s'agissait de l'exanthème vésiculaire du porc (VES : vesicular exanthema of swine) qui fut responsable d'importantes épizooties en élevage porcin dans ce pays jusqu'à 1959. A l'époque les cas de VES étaient considérés en raison des similitudes des signes cliniques et des lésions observées comme des cas de fièvres aphteuses. Mais rapidement des études immunologiques ont exclu la relation entre ces épizooties et le virus de la fièvre aphteuse. L'agent étiologique fut caractérisé en 1968 comme étant un petit virus icosaédrique à ARN et fut désigné sous le nom de « *Vesicular exanthema of swine virus* » (VESV).

Le VESV est devenu par la suite le virus prototype de la famille des *Caliciviridae*.

La seconde maladie associée à un calicivirus à être étudiée concernait la population féline. En effet un virus désigné actuellement sous le nom de « *Feline calicivirus* » (FCV) a été isolé en culture cellulaire en 1957 par Fastier. Ce virus était connu à l'époque comme étant à l'origine d'affections respiratoires prédominantes chez les chats [15].

En 1972, un troisième virus de la famille des *Caliciviridae* fut isolé à partir d'un prélèvement rectal réalisé sur une otarie en Californie. Par la suite, plusieurs sérotypes ont été isolés sur divers mammifères marins et terrestres de la côte pacifique du continent nord américain. Il fut désigné sous le nom de « *San Miguel sea lion virus* » (SMSV). Ce virus, en raison de son passage des mammifères marins vers les porcs aux Etats-Unis, fut intensément étudié et décrit. Des analyses moléculaires ont montré que les isolats de VESV et SMSV constituaient un seul groupe génétique parmi les *Caliciviridae*.

Ces trois virus (VESV, SMSV, FCV) ont initialement été considérés comme étant des membres de la famille des *Picornaviridae* et les FCV ont longtemps été désignés sous le terme de « *feline picornavirus* ». En effet, le VESV se rapprochait des genres *Enterovirus* et *Rhinovirus* par la relative petite taille de sa capsid, son ARN simple brin non segmenté et sa répllication localisée dans le cytoplasme. Par ailleurs, les animaux atteints par le VESV montraient des signes cliniques identiques à ceux atteints par la fièvre aphteuse dont l'agent étiologique est un picornavirus: le « *Foot and mouth disease virus* » (FMDV). Par la suite, l'accumulation des connaissances sur ces virus a conduit à ériger les calicivirus en une famille à part entière. En effet

ces virus étaient différents des picornavirus dans leur structure, leur stratégie de réplication et leurs propriétés physico-chimiques. Ainsi en 1978 ils furent exclus de la famille des *Picornaviridae*.

C'est en 1979 que le comité international sur la taxonomie des virus (ICTV : international committee on taxonomy of viruses) créa une nouvelle famille de virus à ARN monocaténaire de polarité positive dénommée *Caliciviridae*.

A partir du milieu des années 1970, de nouveaux calicivirus dont le *Norwalk virus* (NV) ont été découverts et décrits comme étant responsables de gastro-entérites épidémiques chez l'homme. L'existence de calicivirus humains, associés à des problèmes de santé publique, a permis de mettre en place un nombre plus important de programmes de recherche et a permis d'augmenter le niveau de connaissance sur cette famille virale. Le *Sapporo virus* (SV), virus type de son genre, fut décrit en 1981 au Japon où il fut responsable d'une épidémie de gastro-entérite chez les jeunes enfants.

Le premier calicivirus responsable de maladie chez les lagomorphes a été identifié pour la première fois en 1982 au Danemark, il s'agissait du « *European brown hare syndrome virus* » (EBHSV). En 1995, la dissémination du virus de la maladie hémorragique du lapin (RHDV) à partir des centres d'expérimentations de Wardang Island à la cote Sud de l'Australie a attiré l'attention de média internationaux sur cette petite mais importante famille de virus animaux et humains. Le virus responsable était un calicivirus qui avait émergé pour la première fois en Chine en 1984, d'où il se propagea rapidement à la surface du globe. Ce fut à l'époque la virulence du « *Rabbit hemorrhagic disease virus* » (RHDV) qui attira les scientifiques australiens afin de créer un agent biologique de contrôle des populations de lapin.

Depuis, d'autres virus, physico-chimiquement et morphologiquement apparentés au VESV, isolés de divers mammifères, ont été intégrés ou associés à la famille des *Caliciviridae*. Plus récemment des calicivirus ont pu être isolés d'autres classes de vertébrés comme les oiseaux et les reptiles. Durant les années 1990 des avancées significatives furent réalisées concernant la compréhension de la biologie moléculaire des calicivirus qu'ils soient humains ou animaux. Il est maintenant établi que les calicivirus sont les agents causaux de nombreuses maladies humaines et animales. Le tableau 1 présente un aperçu non exhaustif des principaux calicivirus, de leur hôte et de leur principal effet pathogène.

Les avancées scientifiques récentes incluent la détermination de la séquence nucléotidique complète de nombreux calicivirus. Des progrès significatifs ont été également réalisés concernant le développement de systèmes biologiques permettant l'étude de la réplication de ces virus.

**Tableau 1 : Un aperçu de la famille des *Caliciviridae*. (d'après l'ICTV [20])**

<b>GENRE</b>	<b>NOM</b>	<b>HOTE</b>	<b>Effet pathogène majeur</b>
<i>Vesivirus</i>	<b>VESV</b> <i>Vesicular exanthema of swine virus</i>	Porc	Exanthèmes vésiculaires
	<b>FCV</b> <i>Feline calicivirus</i>	Chat	Pneumonies et Stomatites aiguës
	<b>SMSV</b> <i>San Miguel sea lion virus</i>	Pinnipèdes	Exanthèmes vésiculaires
	<b>BCV</b> <i>Bovine calicivirus</i>	Bovins	Affection respiratoire
	<b>PCV</b> <i>Primate calicivirus</i>	Primates	Affection vésiculaire
	<b>CCV</b> <i>Cetacean calicivirus</i>	Cétacés	Affection vésiculaire
	<b>SCV</b> <i>Skunk calicivirus</i>	Mouffette	Asymptomatique
	<b>RCV</b> <i>Reptile calicivirus</i>	Reptiles	Asymptomatique
<i>Lagovirus</i>	<b>RHDV</b> <i>Rabbit haemorrhagic disease virus</i>	Lapin	Hépatites aiguës fulminantes associées à une coagulation intravasculaire disséminée
	<b>EBHSV</b> <i>European brown hare syndrome virus</i>	Lièvre	
<i>Norovirus</i>	<b>NV</b> Norwalk virus	Homme	Gastro-entérites
<i>Sapovirus</i>	<b>SV</b> Sapporo Virus	Homme	Gastro-entérites
Non assignés	Chicken calicivirus	Poulet	Rachitisme
	White tern	Sterne	Affection vésiculaire
	Lion calicivirus	Lion	Affection vésiculaire
	Mink calicivirus	Vison	Asymptomatique
	Canine calicivirus	Chien	Gastro-entérites
	Porcine enteric calicivirus	Porc	Gastro-entérites
	Bovine enteric calicivirus	Bovins	Gastro-entérites

## 1.2. Phylogénie et classification.

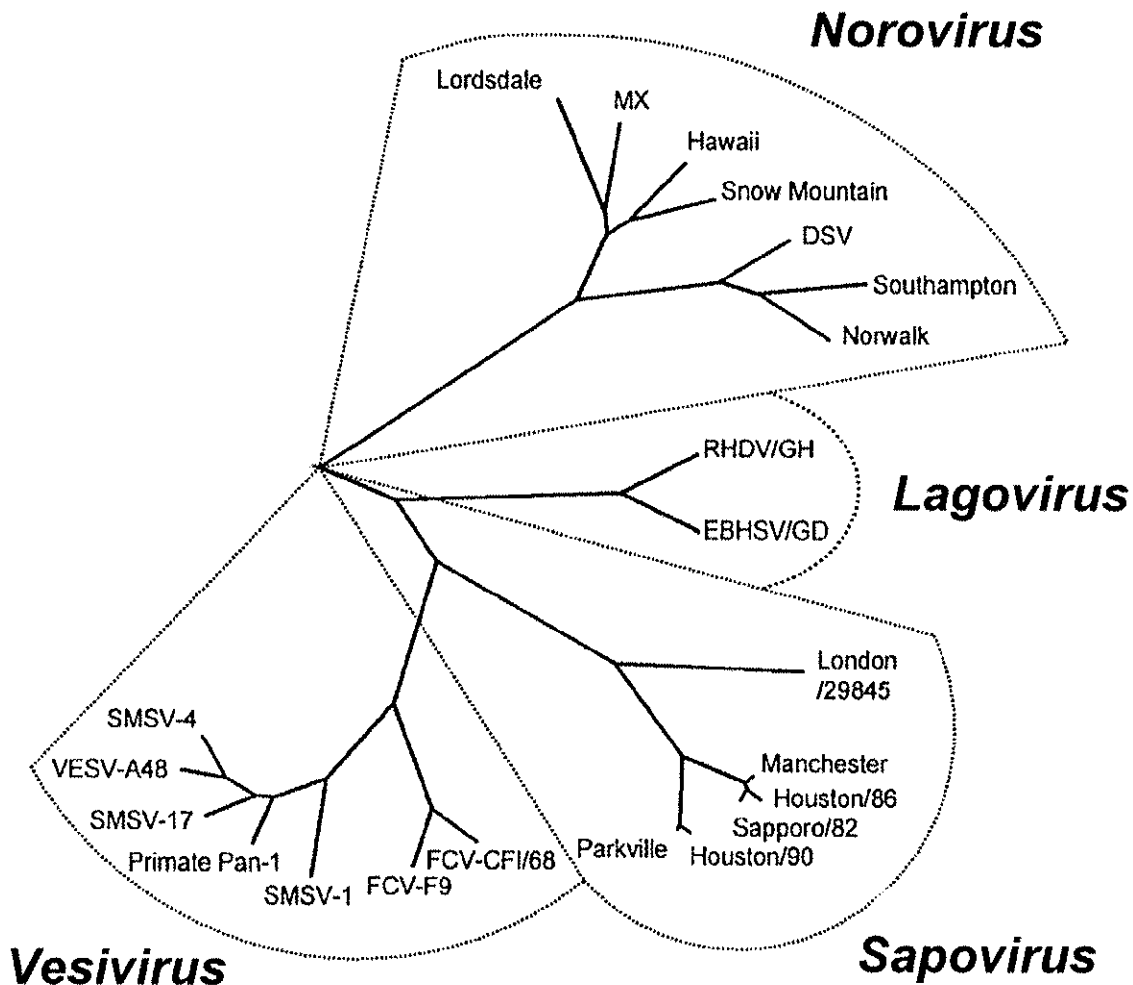
Pour qu'un virus soit intégré dans la famille des *Caliciviridae*, il doit impérativement répondre à 4 critères [20] :

- Avoir un génome constitué d'un ARN simple brin de polarité positive, polyadénylé
- Présenter une petite protéine (VPg pour Viral Protein linked to the genome) covalamment liée à l'extrémité 5' de son génome
- Présenter une capside de symétrie icosaédrique composée d'une seule protéine, la protéine structurale majeure
- En analyse phylogénétique, former un groupe monophylétique ayant un ancêtre commun

La famille autrefois constituée d'un seul genre est maintenant subdivisée en 4 genres : les *Lagovirus*, les *Norovirus*, les *Sapovirus* et les *Vesivirus*.

La notion de genre au sein de la famille des *Caliciviridae* a subi au cours des années et en particulier grâce aux progrès en génétique des évolutions dans sa définition. Ce qui a conduit à modifier les critères d'insertion de tel ou tel virus au sein de tel ou tel genre. En effet, lors de la création de la famille, de nombreux facteurs qui ne sont plus utilisés de nos jours permettaient la subdivision de la famille, parmi ces derniers l'espèce hôte du virus constituait un critère prépondérant. C'est encore le cas lors que l'on parle de HuCV (*Human calicivirus*) au sens large. De nos jours la définition admise par l'ICTV est la suivante : « un genre dans la famille des *Caliciviridae* est défini comme un clade génétiquement distinct de virus » Cette définition requiert l'utilisation d'analyse phylogénétiques pour déterminer le statut taxonomique d'un calicivirus donné. Ces analyses ont été réalisées par différents programmes informatiques indépendants et ils ont tous conduits à l'élaboration d'un dendrogramme qui subdivise la famille en quatre genres distincts. (Fig. 1)

**Figure 1** : Arbre phylogénétique des principaux membres la famille des *Caliciviridae*, basé sur la comparaison de la séquence nucléotidique du gène codant pour la protéine de capsid. (d'après Green *et al.* [20])



Légende : Les extrémités des branches du dendrogramme présentent des isolats viraux. Les quatre principales branches conduisent aux quatre genres de la famille.  
 MX: *Mexico virus*, DSV: *Desert Shield virus*.

Le genre *Lagovirus* présente comme espèce type le RHDV (*Rabbit hemorrhagic disease virus*). Les principales espèces du genre sont le RHDV et l'EBHSV (*European brown hare syndrome virus*).

Le genre *Norovirus* était jusqu'en 2002 dénommé « Norwalk-like viruses ». L'espèce type est le NV (*Norwalk virus*). Les virus de ce genre sont très étudiés car ils sont l'agent étiologique de gastro-entérites épidémiques humaines. Ils étaient dans le passé appelé aussi SRSV (*Small Round Structured virus*). De nombreux isolats ont pu être identifiés : *Desert Shield virus*, *Lordsdale virus*, *Mexico virus*, *Hawaii virus*, *Southampton virus* (SHV).

Le genre *Sapovirus* était jusqu'en 2002 désigné sous le nom de « *Sapporo-like viruses* ». L'espèce type est le SV (*Sapporo virus*). Deux nombreux isolats existent : *Manchester virus*, *Parkville virus*. Ces virus sont eux aussi responsables de gastro-entérites humaines. Ils étaient considérés de par leur structure en microscopie électronique comme des calicivirus humains classiques désignés sous le nom de HuCV (*Human calicivirus*) en opposition aux SRSV.

Le genre *Vesivirus* possède comme virus prototype le VESV (*Vesicular exanthema of swine virus*). Les espèces principales de ce genre sont le VESV et le FCV (*Feline calicivirus*). De nombreux autres isolats très proches du VESV ont été introduits dans ce genre, ils n'ont pas encore de nom définitif et proviennent de diverses espèces hôtes : *Bovine calicivirus*, *Cetacean calicivirus*, *Primate calicivirus*, *Reptile calicivirus*, *San Miguel sea lion virus*, *Shunk calicivirus*.

A part ces virus qui sont les plus connus, de nombreux autres calicivirus ont été répertoriés. A ce jour, tous n'ont pas été rattachés à un genre de la famille et sont candidats à l'adhésion. Trois calicivirus ont un statut particulier. Il s'agit du *Canine calicivirus* (CaCV), du *Bovine enteric calicivirus* (BEV) et du *Porcine enteric calicivirus* (PEC). Ces trois virus ont toutes les caractéristiques requises pour être rattachés à la famille des *Caliviridae* et par analyse génétique devraient pouvoir être inclus dans un genre de la famille. Ainsi, le CaCV, isolé de chiens présentant une diarrhée mortelle, a été pressenti pour appartenir au genre *Vesivirus*. Le BEV, associé aux diarrhées dans les troupeaux de vaches laitières, forme une nouvelle branche au sein du genre *Norovirus*. Le PEC, associé à des diarrhées chez le porc, permet de définir un nouveau génogroupe au sein du genre *Sapovirus*. Il faut noter que le BEV et le PEC sont les premiers calicivirus animaux à s'insérer parmi les calicivirus humains. En effet les genres *Norovirus* et *Sapovirus* ne comportaient jusqu'alors que des virus ayant comme hôte l'homme.

### **1.3. Le cas particulier du virus de l'hépatite E (HEV).**

Le virus HEV est la cause majeure d'hépatites virales aiguës non-A non-B à transmission oro-fécale chez l'homme. Il est endémique dans de nombreuses régions du monde.

Sur la base des caractéristiques morphologiques et des propriétés physico-chimiques des particules virales, il a été fait l'hypothèse que le virus HEV pouvait appartenir à la famille des *Caliciviridae*. Il faut noter que l'organisation génomique du HEV est similaire à celle des calicivirus. Cependant, le génome du HEV semble être coiffé et non lié de façon covalente à une VPg. Or, il s'agit d'une caractéristique fondamentale de la famille des *Caliciviridae*. De plus, la polyprotéine du HEV possède un motif conservé caractéristique des protéases papaïne-like et non d'une protéase trypsine-like comme tous les calicivirus. Par ailleurs, l'analyse comparative des séquences de la polymérase et de l'hélicase a rapproché le virus HEV du RubV (*Rubella virus*) et du BNYVV (*Beet necrotic yellow vein virus*), deux virus appartenant



à la super famille des *alpha-like virus*. Cependant, l'organisation génomique du HEV est différente de l'organisation génomique des *alpha-like virus* et, par ailleurs, le génome du HEV montre une différence majeure qui est l'absence des gènes codant pour les glycoprotéines.

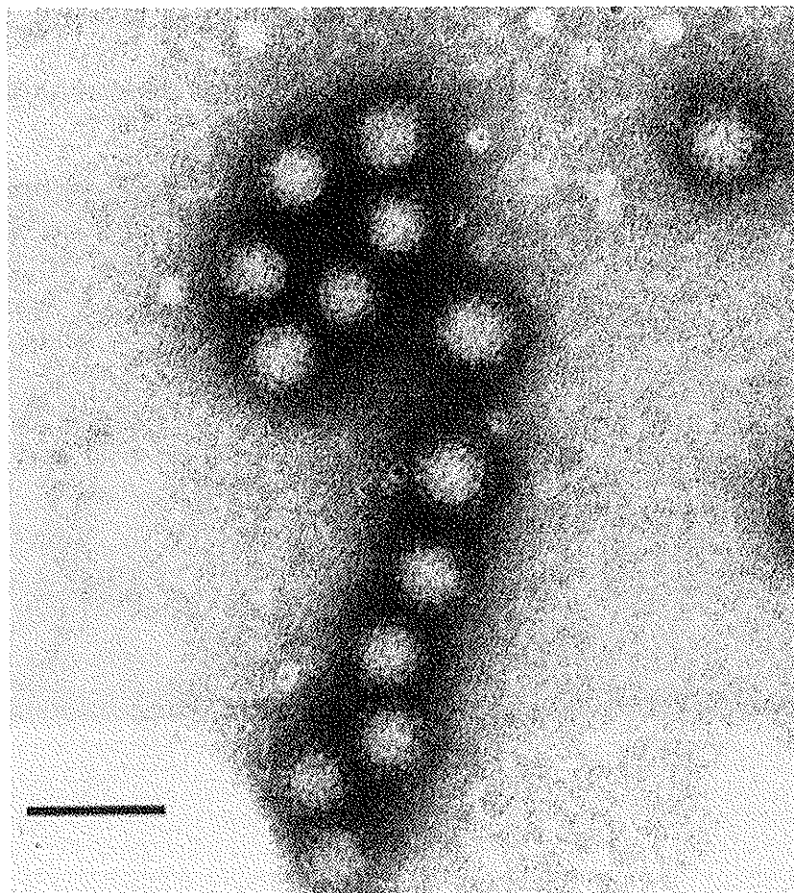
Aucune des deux possibilités n'étant satisfaisante, le HEV, anciennement rattaché à la famille des *Caliciviridae*, fut temporairement transféré dans un genre non assigné à une famille, nommé provisoirement *Hepatitis E-like virus*. De nos jours le HEV a enfin été classé avec la création d'une nouvelle famille, les *Hepeviridae*. HEV est aujourd'hui un virus de la famille des *Hepeviridae* et du genre *Hepevirus*.

## 2. Le virion.

### 2.1. Morphologie et structure.

Les calicivirus tiennent leur nom des dépressions caractéristiques en forme de calice observées sur les virions en microscopie électronique (du latin « calyx » pour coupe, calice). Ce sont des virus non enveloppés et leur taille est comprise selon le genre entre 27 et 40 nm [6,74]. (Fig.2)

**Figure 2 :** Micrographie de particules virales de *Norwalk virus* (NV)  
(d'après Clarke *et al.* [6])  
Echelle : la barre = 50 nm



En 1994, la structure tridimensionnelle de la capsidie des calicivirus a été élucidée et décrite par la division de virologie moléculaire de l'université de Baylor au Texas (USA). Des pseudoparticules de *Norwalk virus* (NV) ont préalablement été produites avec des protéines recombinantes de protéine de capsidie fabriquées dans un système vecteur – hôte faisant intervenir des baculovirus et des cellules d'insectes. La culture cellulaire de ce virus n'étant pas encore réalisable, cette technique a permis d'avoir suffisamment de pseudoparticules virales pour mener à bien l'étude. L'analyse structurale de ces pseudoparticules a été effectuée par deux approches successives complémentaires : la cryomicroscopie électronique et le traitement d'images par ordinateur à 22 Å de résolution et la cristallographie à 3.4 Å de résolution [54].

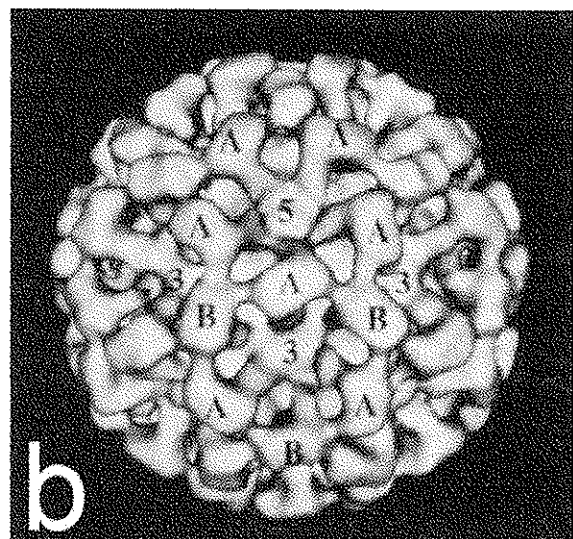
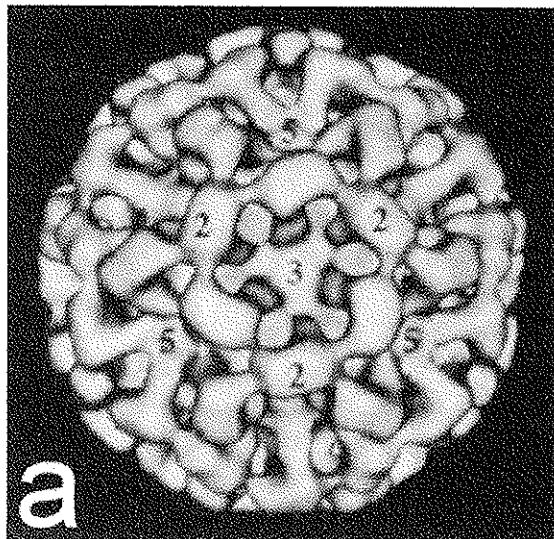
Il a ainsi pu être établi que la capsidie des calicivirus présentait une symétrie icosaédrique et qu'elle était constituée de 180 molécules de la protéine de structure majeure organisées en 90 dimères, appelés aussi capsomères.

La structure de l'icosaèdre montre des protubérances sur les axes 2 et des dépressions sur les axes 5 et 3. Cette structure est expliquée par l'existence en fait de deux capsomères légèrement différents dans leur structure quaternaire nommé A et B. La symétrie icosaédrique de la capsidie est permise par 60 capsomères de type A et 30 de type B. (Fig.3)

**Figure 3 :** Structure tridimensionnelle icosaédrique d'une pseudoparticule de *Norwalk virus* (NV) (d'après Prasad *et al.* [54])

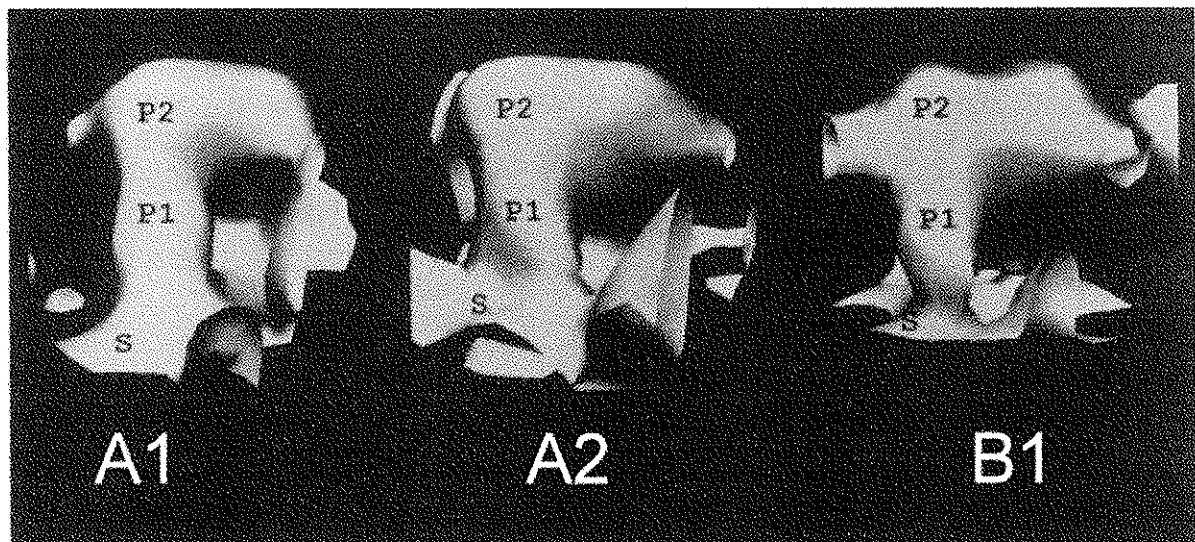
a : cette modélisation 3D présente les axes des symétries 2, 3, 5 et les protubérances et dépressions associées.

b : on peut voir ici l'agencement des deux types de capsomères A et B.



Ces capsomères sont eux aussi constitués de trois unités de bases quasi équivalentes associées deux à deux qui sont en fait de petites variations dans la structure quaternaire de la protéine de capsid unique et sont nommés A1, A2, B1. La structure de la protéine de capsid apparaît donc comme étant modulable avec trois domaines distincts qui restent cependant toujours présents : un domaine globulaire distal (P2) qui est bilobé, un domaine central (P1) servant vraisemblablement de charnière flexible et un domaine inférieur (S). (Fig.4)

**Figure 4 :** Aspect tridimensionnel de la protéine de capsid, unité structurale majeure, sous ses trois formes possibles A1, A2, B1 ; avec ses trois domaines caractéristiques P1, P2, S. (d'après Prasad *et al.* [54])



Le domaine S qui correspond à la partie N-terminale de la protéine est constitué de 8 feuillets bêta et est impliqué dans la formation du « squelette » de la capsid. Le domaine P entre dans la formation des protubérances. Une partie du domaine P montre une structure similaire au domaine 2 du facteur d'élongation eucaryote EF-TU. Ce sous-domaine, situé à l'extérieur de la capsid, est variable parmi les virus du genre *Norovirus* et pourrait être un déterminant de la spécificité de souche et de la fixation à la cellule hôte.

## 2.2. Composition de la particule virale.

Les particules virales de calicivirus sont composées typiquement, d'une part de la protéine structurale majeure (VP1) qui est organisée comme nous venons de le voir précédemment pour former une capsidie icosaédrique, et d'autre part du génome viral qui est lié de façon covalente à une petite protéine appelée VPg (VPg signifiant « viral protéine linked to the genome ») [6, 74].

Les membres des *Caliciviridae* possèdent un génome à ARN d'environ 7.5 kb (entre 7.3 et 8.3 kb). Le génome des calicivirus est composé d'un ARN simple brin de polarité positive, polyadénylé. L'un des éléments distinctifs de l'organisation du génome des calicivirus est la présence d'une protéine nommée VPg liée de façon covalente au génome viral en 5' [5, 6].

Chez certains calicivirus, en particulier le FCV et le RHDV, un ARN subgénomique de 2.2 à 2.6 kb, lui aussi lié à la protéine VPg, est empaqueté dans le virion [46, 68].

Une protéine structurale mineure (VP2) rentre également dans la constitution du virion. Bien que son rôle exact reste encore inconnu, il a été démontré en 2005 qu'elle était essentielle dans la production de virions infectieux. Il est suggéré qu'elle puisse participer à l'encapsidation de l'ARN viral dans les particules [66, 69].

## 2.3. Propriétés physicochimiques.

Les calicivirus sont instables à des pH inférieurs à 3, ils ont une instabilité variable à des pH entre 3 et 5. Ils sont stables à des pH supérieurs à 5. [14, 39]

Ils sont inactivés par chauffage à 50°C pendant 30 min. Leur stabilité diminue fortement en présence de hautes concentrations de  $Mg^{2+}$ .

Leur densité en gradient de chlorure de césium (CsCl) varie entre 1.36 et 1.41 g/cm<sup>3</sup> et leur coefficient de sédimentation en gradient de sucrose entre 170 et 183S<sub>20w</sub>.

La dose d'UV (ultraviolet) nécessaire à l'inactivation des calicivirus est proche de celle des autres virus à ARN simple brins. En ce qui concerne les FCV, les doses d'UV nécessaires à l'inactivation de 90%, 99,9% et 99,99% des FCV dans de l'eau sont respectivement de 6, 26 et 36mJ/cm<sup>2</sup> [75].

Les calicivirus ne sont pas sensibles à de nombreux désinfectants classiques comme la chlorexidine et les ammoniums quaternaires. L'hypochlorite de sodium à 5% (l'eau de Javel) reste le désinfectant de choix en vue d'une décontamination.

Dans des conditions d'absence de désinfection efficace, les FCV peuvent persister dans l'environnement à température ambiante (20°C) plus de 25 jours [14].

Le RHDV peut quant à lui persister dans ces mêmes conditions plus de 105 jours.

### 3. Le génome viral.

L'ARN génomique des calicivirus est simple brin, de polarité positive et mesure de 7.3 à 8.3 kb. Il est organisé suivant le virus en deux ou trois cadres de lecture ouverts (ORF : open reading frame). Dans les genres *Lagovirus* et *Sapovirus* de la famille des *Caliciviridae*, les protéines non structurales et la protéine de structure majeure (VP1) sont codées dans la même ORF. Dans les genres *Vesivirus* et *Norovirus*, la protéine de capsid (VP1) est codée dans une ORF séparée [5,7]. (Fig.5)

Dans tous les genres, un ARN de la taille de l'ARN génomique sert de modèle pour la synthèse de la polyprotéine non structurale. L'ARN subgénomique de 2.2 à 2.4 kb qui se trouvait aussi dans le virion est bicistronique et permet la traduction des protéines VP1 et VP2 [23].

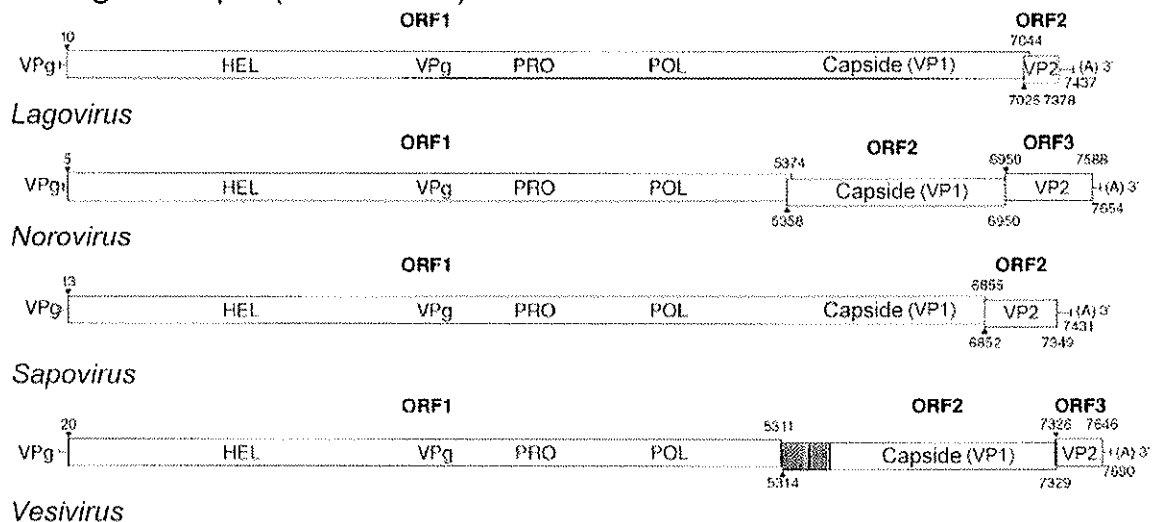
La protéine de structure mineure (VP2) est codée chez tous les calicivirus dans une ORF séparée près de la terminaison 3' du génome. Ce qui correspond chez les *Norovirus* et les *Vesivirus* à l'ORF3 et chez les *Sapovirus* et les *Lagovirus* à l'ORF2 [7]. La polyprotéine non structurale contient entre autre une hélicase, la VPg, une protéase 3C-like et une ARN polymérase ARN dépendante.

Il est important de noter qu'il existe une réelle corrélation entre l'analyse phylogénétique à partir des séquences nucléotidiques et les différents types d'organisation génomique que l'on trouve au sein de la famille.

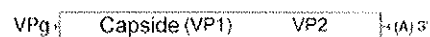
**Figure 5 :** Organisation génomique des quatre genres de la famille des *Caliciviridae*. (d'après Green *et al.* [20])

HEL=hélicase, PRO=protéase 3C-like, POL=polymérase, VP1=protéine structurale majeure, VP2=protéine structurale mineure

ARN génomique (7.3 - 8.3 kb)



ARN subgénomique (2.2-2.4 kb)



## **4. Le cycle viral.**

La connaissance exacte du cycle de développement des calicivirus dans les cellules eucaryotes n'est toujours pas établie. Les études sont ralenties par le fait qu'il n'existe pas de système de culture simple et approprié pour la plupart des calicivirus. A l'heure actuelle, seuls les calicivirus du genre *Vesivirus* se multiplient en culture cellulaire.

### **4.1. Les phases précoces de l'infection.**

Trois grands travaux majeurs menés parallèlement chez les NV, FCV et RHDV ont permis d'obtenir de premiers renseignements sur les étapes de fixation et d'internalisation des calicivirus. Il est important de noter que les études menées sur le virus FCV sont les plus représentatives du fait de sa capacité à se répliquer en culture cellulaire.

Une première étude permet d'en savoir plus sur les caractéristiques de la fixation des FCV à leurs cellules hôtes. Les cellules hôtes utilisées pour étudier les FCV sont généralement des cellules de reins de chat appelées CRFK (Crandell-Rees feline kidney).

Il a très vite été constaté que les FCV, comme d'ailleurs la majorité des calicivirus, présentaient un tropisme exclusif pour une espèce hôte donnée. En effet les FCV affichent un tropisme restreint aux cellules d'origine féline. Néanmoins un grand nombre de cellules non permissives peuvent permettre la réplication virale et la production de virions quand l'ARN viral est transfecté directement dans ces dernières. Ceci suggère que le tropisme cellulaire est directement lié à l'accrochage du virus sur la cellule hôte.

La nature du récepteur cellulaire aux FCV a été élucidée, il s'agit d'un récepteur carbohydraté saturable dont la reconnaissance par le virus est dépendante d'ions divalents. En effet, le traitement des cellules aux neuraminidases suivi d'un traitement aux O-glycanases induit une nette diminution du taux de fixation. Une étude visant, de manière indirecte, à identifier le récepteur du RHDV, a montré que comme dans le cas du FCV, le RHDV se fixerait sur des molécules carbohydratées [33].

Une autre étude a montré que l'élévation du pH endosomal avec des agents acidotropes tel que la chloroquine, compromet la décapsidation virale et les étapes ultérieures de réplication virale. Dans sa forme non protonée la chloroquine traverse facilement les membranes et s'accumule dans les environnements acides tels que les lysosomes où elle devient protonée et contribue ainsi à l'augmentation du pH. Cette étude a en effet montré que la chloroquine inhibe la production de virus infectieux si elle est présente durant l'adsorption et les étapes précoces de l'infection

virales, mais son action reste très faible si elle est ajoutée deux heures post-infection. De plus les effets de la chloroquine sont réversibles, permettant la reprise de la multiplication virale quand elle est retirée de la culture cellulaire. Ces résultats ont conduit les auteurs à proposer un mécanisme d'endocytose pour expliquer le mode de pénétration du virus ; la décapsidation nécessiterait quant à elle une étape à pH acide [34].

La possibilité de purifier une grande quantité de pseudoparticules de NV a permis d'étudier leur fixation sur différentes lignées cellulaires et leur internalisation. La nature du récepteur au NV semble être la même quelle que soit la lignée cellulaire et le taux de fixation du virus semble plutôt dépendant du nombre de molécules à la surface cellulaire. Les pseudoparticules se fixent de façon spécifique à un récepteur saturable.

#### **4.2. La réplication du génome viral.**

Les calicivirus sont des virus non enveloppés à ARN dont le cycle de réplication relativement court (8h) semble avoir une localisation uniquement cytoplasmique. Tous les calicivirus présentent un ARN génomique d'environ 7,5 kb et un ARN subgénomique d'environ 2,2 kb. Cependant, les travaux sur les calicivirus adaptés à la culture de cellules (FCV, SMSV) font état en plus des ARN génomique et subgénomique de la présence de plusieurs populations de molécules d'ARN exprimées par les cellules infectées. En effet, il a été décrit dans les cellules infectées par SMSV 4 ARN différents : l'ARN génomique 36S, l'ARN subgénomique 22S et 2 autres correspondant aux formes double brin des ARN génomique et subgénomique. Des analyses plus fines chez FCV ont pu mettre en évidence la présence d'ARN anti-sens des ARN génomique et subgénomique [4].

La famille des *Caliciviridae* a pour autre caractéristique d'avoir une séquence répétée non codante d'environ 15 nucléotides en 5' des ARN génomique et subgénomique. Cette structure conservée est probablement impliquée dans un mécanisme de régulation (encapsidation, réplication, transcription des ARN...).

En 2004, il a été prouvé que la phase de multiplication virale s'accompagne d'une inhibition des synthèses protéiques cellulaires. Cet arrêt des synthèses est concomitant au clivage de facteur initiant la traduction : eIF4GI et eIF4GII. Sachant que les FCV induisent l'apoptose (cf 4.3) de leur cellule hôte, il a d'abord été pensé que ce blocage des synthèses était directement lié au processus d'apoptose. Mais l'étude des produits de clivage des facteurs d'initiation de la traduction a montré que ces derniers étaient différents que ceux produits lors d'un processus d'apoptose [79].

### 4.3. Les effets cytopathiques.

Les effets cytopathiques induits lors de l'infection par les calicivirus ont été bien étudiés. A la fin des années 1970 des descriptions précises des effets observables en microscopie électronique lors de l'infection par des FCV de différents types cellulaires furent réalisés. Les dommages causés par la multiplication virale sur le noyau et les organites cellulaires de pneumocytes et de macrophages alvéolaires félins ont pu être décrits. De nos jours on cherche à expliquer les raisons de telles modifications cellulaires [37].

Les mécanismes utilisés par les calicivirus pour augmenter la diffusion des particules virales dans l'hôte ne sont pas clairs. Nous ne possédons que des bribes de réponses concernant le tropisme cellulaire et la pathogénie.

En 2003, des études plus poussées furent menées. On savait déjà que l'infection par le FCV de cellules félines rénales de Crandell-Rees causait de rapides effets cytopathiques suivis de mort cellulaire. Mais il fut établi que la réplication des FCV dans les cellules entraîne la mise en place de changements caractéristiques de l'apoptose [70].

Ces modifications sont :

- la condensation de la chromatine
- la fragmentation de l'ADN nucléaire
- la translocation de phosphatidylsérine (PS) à travers la membrane cytoplasmique

Des études récentes sur les lapins infectés par le RHDV montrèrent que l'apoptose des hépatocytes pouvait expliquer l'hépatite létale fulminante qui est associée à cette maladie. L'apoptose concerne ici de nombreux types cellulaires d'organes différents incluant les macrophages dans le poumon, la rate, les nœuds lymphatiques et les cellules tubulaires dans le rein. Des signes de modifications apoptotiques de cellules de tissus infectés par le EBHSV (*European brown hare syndrome virus*) sont aussi décrits.

L'apoptose est un processus biochimique hautement régulé chez les organismes multicellulaires entraînant l'autodestruction cellulaire en réponse à un grand nombre de stimuli. Une des principales fonctions de l'apoptose est l'élimination de cellules durant les étapes du développement lors de l'embryogenèse et l'élimination des cellules qui ont subi une altération à cause de facteurs extérieurs tels qu'une hypoxie, une irradiation aux UV ou une infection virale. Les cellules subissant l'apoptose présentent des changements caractéristiques dont :

- une altération de leur morphologie
- des changements dans la composition de la couche externe de leur membrane cellulaire
- la compaction et la fragmentation de la chromatine nucléaire



L'induction de l'apoptose dans des cellules infectées par des virus peut être déclenchée par plusieurs mécanismes dont :

- la dérégulation du cycle cellulaire
- la modulation par le virus du nombre d'effecteurs anti-apoptotiques
- l'activation des caspases

Un certain nombre de virus est connu pour exprimer des protéines qui ont un effet inhibiteur sur l'apoptose. Il a en effet été proposé que le délai accordé par l'inhibition du processus d'autodestruction cellulaire par ces virus permet d'augmenter le temps de l'amplification virale. Ce qui est par conséquent favorable au virus. Au contraire, certains virus peuvent compter sur l'apoptose pour détruire l'intégrité cellulaire près de la fin de leur cycle de réplication ; le largage et la diffusion des particules virales sont ainsi facilités. La connaissance des mécanismes responsables de l'induction ou de l'inhibition de l'apoptose par les virus permet de mettre au point de nouvelles stratégies pour contrôler les infections virales.

En ce qui concerne les FCV, il a été montré que les modifications apoptotiques observées chez les cellules CRFK infectées étaient associées à une cascade d'activations de protéases cellulaires de la cystéine appelées caspases. Les caspases sont responsables du clivage sélectif d'un certain nombre de protéines cellulaires clé impliquées dans le maintien de l'intégrité structurale et fonctionnelle de la cellule. Parmi ces protéines, certaines jouent un rôle majeur dans le contrôle du complexe de régulation de l'apoptose [70].

En culture cellulaire de cellules CRFK, les effets cytopathiques sont observables à environ cinq heures post infection ; le tapis cellulaire étant complètement détruit en quatorze heures. La réplication virale a lieu dans le cytoplasme cellulaire et les cellules infectées vont présenter des remaniements importants de leur membrane, ces derniers étant associés avec la production de nombreuses vésicules intracellulaires. Dans les stades plus avancés, vers cinq à huit heures post infection, les cellules deviennent arrondies. Les modifications au niveau du noyau cellulaire sont observables à partir de cinq heures post infection, elles correspondent à une condensation de la chromatine en un à deux corps arrondis. Enfin, les cellules devenues rondes se détachent les unes des autres et sont lysées [70].

Afin de s'assurer que ces modifications cellulaires étaient bien liées à l'apoptose, un marqueur précis de celle-ci fut mis en évidence. En effet la translocation de la phosphatidylsérine (PS) de la couche interne vers la couche externe de la membrane cellulaire est un marqueur précoce de l'apoptose. Cet événement peut être détecté par l'analyse de l'accrochage de l'annexine V à la surface des cellules. Durant les stades plus tardifs quand l'intégrité de la membrane cellulaire devient compromise, l'annexine V peut aussi interagir avec la couche interne de la membrane cellulaire. Pour distinguer les cellules mortes qui se colorent avec l'annexine V à cause de la perte d'intégrité de la membrane cellulaire des cellules en stade plus précoce d'apoptose, du propidium iodide (PI) est utilisé. Ce colorant des acides nucléiques qui ne traverse pas les membranes lipidiques ne colore pas les cellules vivantes, donc il permet ici d'interpréter la coloration à l'annexine V. L'utilisation de ces deux colorations a prouvé que les modifications membranaires débutaient à cinq heures

post infection et que la lyse des premières cellules survenait à huit heures post infection [70].

La fragmentation de l'ADN nucléaire dans les cellules apoptotiques a lieu dans la phase finale de la mort cellulaire. Cette étape est connue pour être directement liée à l'activité des caspases. Les caspases sont activées par un processus protéolytique qui se déroule sur leur proenzyme qui est naturellement exprimée dans les cellules vivantes. Pour examiner si l'activation des caspases a lieu dans les cellules infectées par les FCV, des cellules infectées et non infectées ont été mises en présence d'un peptide marqueur fluorogénique (FITC-VAD-FMK) perméable à la membrane cellulaire et qui a la faculté de se fixer à la majorité des caspases activées. L'analyse par cytométrie de flux du peptide montre que sa fixation augmente à partir de cinq heures post infection. Ce résultat a montré que l'activation des caspases dans les cellules infectées survient de façon concomitante avec la translocation de la PS et du début de la fragmentation de l'ADN nucléaire [70].

Enfin pour bien prouver que l'activation des caspases était bien lié à l'infection virale, des expériences impliquant des FCV inactivés aux UV et d'autres l'ajout d'inhibiteurs des synthèses protéiques (cycloheximide) au milieu de culture ont été menées [70].

La synthèse de protéine virale est bien à l'origine de ces modifications apoptotiques.

Les cellules eucaryotes possèdent de nombreuses caspases sous forme inactive ; des études plus précises laissent suggérer que ce sont les caspases 3, 8, 9 et tout particulièrement la 3 qui présenteraient un niveau d'activité très élevé lors d'infection par les FCV.

#### **4.4. Les protéines virales.**

Les protéines virales synthétisées par les calicivirus sont classiquement réparties en d'une part les protéines non structurales et d'autre part les protéines structurales. Les ARN messagers traduits pour réaliser ces synthèses protéiques sont l'ARN génomique et l'ARN subgénomique [6].

##### **4.4.1. Les protéines non structurales.**

Quel que soit le genre de FCV considéré, c'est l'ORF1 du génome viral qui code les protéines non structurales. Dans tous les cas une grande polyprotéine non structurale est préalablement synthétisée. Sa taille peut varier de 190 à 260 kDa. Cette polyprotéine subit en parallèle à sa traduction des processus protéolytiques qui permettent d'obtenir les différentes protéines non structurales. L'enzyme responsable de ces scissions est une protéase à cystéine (3C) qui fait elle-même partie des protéines non structurales fabriquées par le virus [6, 67].

Tous les polypeptides issus des processus de maturations de la polyprotéine non structurale n'ont pas été associés à une protéine mature fonctionnelle et il existe des différences en nombre et taille entre les différents calicivirus. Néanmoins, certaines protéines sont toujours présentes et l'arrangement linéaire de leur séquence nucléotidique codante est bien conservé dans la famille et présente même de fortes similitudes avec celui d'une autre famille virale : les *Picornaviridae*.

Les protéines matures non structurales issues de cette polyprotéine sont : une hélicase (2C), la protéine VPg, une protéase à cystéine (3C) et une ARN polymérase ARN dépendante (3D). Ces protéines se retrouvent chez tous les calicivirus mais présentent, bien que les séquences soient parfois bien conservées, des compositions propres à chaque virus [6,7].

Le processus de maturation des protéines des calicivirus a essentiellement été étudié chez le FCV, le RHDV, le Southampton virus (SHV). Il est important de préciser que peu de données sont disponibles sur la fonction des protéines virales.

### **L'hélicase (2C):**

Cette protéine a une taille estimée à 40 kDa ; elle est présente chez tous les membres de la famille. Il s'agit de la p39 du FCV, de la p37 du RHDV et p40 de SHV. Sur la base de la comparaison de la séquence d'acides aminés, l'hélicase du FCV présente 47% d'homologie avec celle du RHDV et 35% avec celle de SHV. Le séquençage a montré également la présence d'un domaine fonctionnel impliqué dans la fixation aux acides nucléiques. Ce domaine est homologue à celui de la protéine 2C des picornavirus avec notamment le motif GxxGxGKT/S, consensus chez les hélicases. Chez les calicivirus, ce motif est très conservé puisque seul un acide aminé varie : GxPGIGKT. Les preuves de l'activité NTPasique de cette protéine ont été décrites chez le RHDV et le SHV. Cette protéine présente de plus une structure secondaire avec deux hélices alpha dans sa partie N-terminale (aa 4 à 22 et aa 35 à 57 de l'hélicase du FCV). Ces motifs, grâce à leur localisation et leur nature amphipathique, laissent suggérer une association membranaire de cette hélicase. Il a été montré chez les picornavirus que la délétion ou la mutation de cette partie de la protéine avait un impact délétère sur la multiplication virale. L'hélicase des calicivirus est donc impliquée dans la réplication du génome viral et serait insérée dans les membranes intracellulaires.

### **La VPg :**

Cette protéine est liée de façon covalente à l'extrémité 5' des ARN génomiques et subgénomiques des calicivirus. La taille apparente de cette protéine varie entre 14 et 22 kDa et semble toujours supérieure à la taille déduite à partir de la séquence des acides aminés (12 à 16 kDa). Chez le FCV, la VPg est une protéine de 111 acides

aminés, correspondant après calcul à une taille de 12.65 kDa. Mais la forme mature que l'on trouve dans les cellules infectées et les virions est de 15.5 kDa [68].

Par ailleurs, cette protéine montre une extrémité N-terminale très hydrophile et présente deux motifs bien conservés au sein de la famille : KGK(N/T)K et (D/E)EY(D/E)E. Des études récentes chez le RHDV ont montré que le résidu tyrosine présent dans ce deuxième motif subissait *in vitro* une réaction d'urydylation par la polymérase virale et il fut proposé à cette occasion que cet acide aminé était le site de liaison covalente à l'ARN viral. De plus il fut prouvé chez le FCV que toute mutation du génome viral affectant cet acide aminé donnait naissance à un virus abortif. La tyrosine 24 de la VPg du FCV est donc considérée comme le site de liaison à l'ARN viral [44].

D'autres études ont permis de montrer le rôle indispensable joué par la VPg dans le pouvoir infectant de l'ARN génomique viral des calicivirus. En effet le traitement de l'ARN génomique viral avec des protéinases K qui détruisent la liaison de l'ARN à la VPg, a pour conséquence l'abolition de l'infectivité de cet ARN et diminue de plus fortement sa faculté à être traduit. Le fait qu'en culture cellulaire la VPg puisse être remplacée dans sa fonction par un analogue de coiffe et le fait qu'il y ait une similarité de séquence entre la VPg et le facteur d'initiation eucaryote eIF1A tendraient à montrer un possible rôle de la VPg dans l'initiation de la traduction. Il a de plus été récemment prouvé que la VPg des Norovirus présentait des interactions avec le facteur d'initiation eIF3 avec lequel elle pourrait hypothétiquement former un complexe d'initiation de la traduction [9].

Bien que de nombreuses zones d'ombres persistent sur le rôle ou les implications exactes de la VPg, il est maintenant admis que cette protéine contribue aux interactions entre l'ARN viral et toute la machinerie cellulaire nécessaire pour initier la traduction.

### **La protéase à cystéine (la 3C-like cysteine protease) :**

Cette enzyme appartient au groupe des protéases trypsine-like encodées par la superfamille des virus à ARN de polarité positive. Elle fut initialement définie par analogie de séquence avec la protéase 3C thiol des *Picornaviridae* chez qui l'acide aminé principal du site actif est une sérine au lieu de la cystéine des *Caliciviridae*. Sa taille, plus petite que chez les picornavirus, varie de 15 à 19 kDa. La cystéine est présente dans un motif conservé au sein de la famille (GDCG) et constitue le site catalytique nucléophile qui confère l'activité protéolytique à la protéine. A ce jour, la protéase à cystéine semble être la seule protéine des calicivirus présentant une activité protéolytique [7].

L'activité de cette protéase a été étudiée dans différents systèmes expérimentaux qu'ils soient eucaryotes ou bactériens. On a pu noter une activité en *cis* et en *trans*. Les sites cibles exactes de cette protéase ont été déterminés par mutagenèse dirigée ou par séquençage des extrémités N-terminales des produits de clivage.

Afin de pouvoir décrire les interactions entre la protéase et son substrat, il est communément utilisé la nomenclature de Schechter et Berger. Brièvement, les acides aminés situés du côté N-terminal de la liaison peptidique cible sont nommés

P3, P2, P1 et du côté C-terminal P1', P2', P3'. Les différentes analyses ont montré que la protéase à cystéine des calicivirus tolère un nombre limité d'acides aminés en position P1 et P1' du site de clivage. En position P1, seuls l'acide glutamique (E) et la glutamine (Q) ont permis jusqu'alors une activité protéolytique. En position P1', la nature de l'acide aminé est moins restreinte, il semble qu'il faille un acide aminé avec un encombrement stérique faible tels que la glycine (G), l'alanine (A), la sérine (S) ou la thréonine (T). Les acides aminés présents en P1 et P1' sont bien conservés dans la famille. Les autres positions présentent des caractéristiques plutôt propres à chaque virus. Ainsi la protéase du RHDV reconnaît en général des sites de clivage avec un gros acide aminé hydrophobe en position P2 tel que la phénylalanine (F) et la tyrosine (Y). Dans le cas de la protéase du FCV, ce type d'acide aminé est préférentiellement reconnu en position P4. Les protéases de ces deux virus préfèrent généralement un acide aminé chargé positivement, c'est-à-dire l'arginine (R) ou la lysine (K), en position P3. La figure 6 présente les différents sites de clivage présents dans la polyprotéine de l'ORF1 du FCV [69]. (Fig.6)

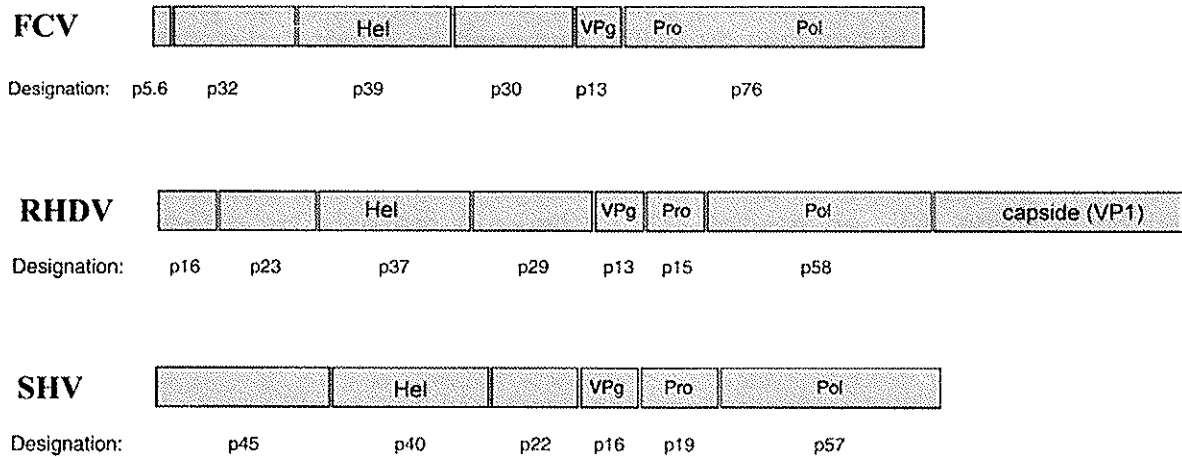
**Figure 6 :** Séquence d'acides aminés entourant les sites de clivage de la protéase à cystéines sur la polyprotéine non structurale et le précurseur de capsid des FCV. (d'après Sosnovtsev *et al.* [69])

FCV		P1	P1'	
46/47	N K L S R P I R A	E	E	A C P S C A S Y D V
331/332	K A L F T G F R S	E	E	D V A N S F W Y M A
685/686	T L K N M A F E A	E	E	N G H S E H R Y G F
960/961	Y A S R F R P K S	E	E	A K G K T K S K V G
1071/1072	R G Y D V S F A E	E	E	S G P G T K F H K N
cap	D P N L P L F R L	E	E	A D D G S I T A P E

Nous ne connaissons pas encore tous les rôles de cette enzyme, ni tous les sites de clivage qu'elle peut reconnaître. Nous savons toutefois à ce jour qu'elle réalise non seulement le clivage de la polyprotéine non structurale virale, mais aussi de la protéine de capsid majeure et enfin il a été prouvé récemment qu'elle clive des protéines de la cellule hôte afin de favoriser la multiplication virale.

La cartographie du clivage de la polyprotéine non structurale est bien connue et fut étudiée chez de nombreux virus de la famille. Ces études ont permis de mieux connaître les protéines non structurales des calicivirus et ont mis en évidence de nouveaux fragments assez constants dans la famille mais dont le rôle - s'il y en a un - reste pour l'instant inconnu. Ainsi comme on peut le voir sur la figure 7 qui présente la carte génétique de l'ORF1 du FCV, RHDV et SHV (*Southampton virus*); les protéines non structurales communes à la famille sont présentes et d'autres fragments propres à chaque virus sont présents [67]. (Fig.7)

**Figure 7 :** Aspect de la carte génétique de l'ORF1 du FCV, RHDV et SHV. La désignation des protéines correspondantes en rapport à leur masse moléculaire est donnée, ainsi que le nom de la protéine si elle est identifiée. (d'après Sosnovtsev *et al.* [69])



Il est intéressant de noter que le clivage entre la protéase 3C-like et la polymérase est souvent décrit comme faiblement efficace et ceci est particulièrement vrai chez le FCV. En effet chez ce dernier on a pu identifier un précurseur stable de 76 kDa de la protéase et polymérase virale communément nommé Pro-Pol (3CD). Les conditions nécessaires à ce clivage sont mal connues, des facteurs cellulaires pourraient intervenir. Chez le RHDV et le SHV, on a pu constater que ce clivage se déroulait lorsque la concentration cellulaire du précurseur devenait importante. Ces observations laissent suggérer un mécanisme de régulation lors de la maturation des protéines virales.

Par ailleurs, comme on l'a dit précédemment, cette protéase réalise aussi le clivage de la molécule précurseur de la protéine de capsid. En effet il a été reporté chez les *Vesivirus* que la protéase 3C-like était responsable du clivage par une activité *trans* du précurseur de la protéine structurale majeure issue de l'ORF2 et permettait ainsi l'obtention de la protéine de capsid mature (VP1) [69].

En 2004, il a été prouvé que la protéase 3C-like pouvait aussi avoir une activité protéolytique sur des protéines d'origine cellulaire. En effet cette enzyme est capable de scinder la partie C-terminale de la PABP (poly(A)-binding protein) et de ce fait l'inactiver. Tous les rôles de cette protéine ne sont pas encore connus. Il est actuellement établi que la PABP intervient dans la stabilisation des ARNm, dans la régulation de leur dégradation et dans le déclenchement et le bon déroulement de la traduction. De part sa structure cette protéine peut interagir avec les ARNm et les facteurs d'initiation de la traduction et en particulier eIF4G. La PABP a été initialement décrite comme un simple constituant des ribonucléoprotéines se fixant à l'extrémité poly(A) des ARNm pour les stabiliser. Il est maintenant clair qu'elle ne joue pas uniquement ce rôle passif. Elle a un rôle actif de contrôle sur les ARNm, elle

participe à leur dégradation et, en se fixant sur la queue poly(A), elle témoigne de l'intégrité du messenger. D'une manière générale, la PABP associée à la queue poly(A), en favorisant la circularisation de l'ARNm, facilite la traduction d'un messenger de bonne qualité, indispensable pour le fonctionnement cellulaire. L'inactivation d'une telle protéine, laisse suggérer le rôle important joué par la protéase virale dans le blocage des synthèses de la cellule hôte durant la réplication virale [36].

#### **L'ARN polymérase ARN dépendante :**

Cette protéine est issue, comme nous l'avons vu précédemment, du clivage du précurseur Pro-Pol plus ou moins stable selon le calicivirus considéré. Cette ARN polymérase présente une taille d'environ 57 kDa. L'analyse de sa séquence, quelque soit le calicivirus, a permis de retrouver les motifs GLPSG et YGDD caractéristiques des ARN polymérase ARN dépendantes des virus à ARN de polarité positive. La fonctionnalité de cette polymérase a été démontrée chez le RHDV dans un système hétérologue. Cette protéine est capable de synthétiser à partir d'ARN synthétique polyadénylé un ARN complémentaire de polarité négative en présence d'oligonucléotides [22].

#### 4.2.2. Les protéines structurales.

##### **La protéine majeure de capsid (VP1) :**

Les calicivirus ont comme particularité de posséder une seule protéine de capsid majeure, appelée communément VP1 et dont la masse moléculaire varie entre 58 et 76 kDa. La synthèse et la maturation de cette protéine furent beaucoup étudiées et des différences existent parmi les membres de la famille [18].

Concernant la carte génétique, la séquence codante de la protéine de capsid se situe à l'extrémité 5' de l'ORF1 chez les genres *Lagovirus* et *Sapovirus*. Par contre, chez les genres *Vesivirus* et *Norovirus*, elle est codée dans une ORF séparée, appelée ORF2 [7,73].

A l'heure actuelle, la production de la protéine de capsid est considérée comme provenant de la traduction de l'ARN subgénomique. Ceci est clair et admis chez les genres *Vesivirus* et *Norovirus* chez lesquels l'ORF2 et l'ORF3 sont exprimées à partir d'un unique et seul ARN subgénomique. Cependant, pour les genres *Lagovirus* et *Sapovirus*, la provenance de la protéine de capsid par traduction à partir de l'ARN subgénomique ou par maturation de la polyprotéine peut se poser. En effet chez ces derniers, la polyprotéine issue de l'ORF1 contient à la fois les protéines non structurales et la protéine structurale majeure. De plus l'étude de la maturation de cette polyprotéine a montré chez le RHDV l'existence d'un site de clivage entre la protéine de capsid et la protéine qui la précède, c'est-à-dire la polymérase. D'autre

part, la production expérimentale de la protéine de capsidite par l'une ou l'autre des voies conduit à l'assemblage de pseudoparticules. Enfin, le séquençage de l'extrémité N-terminale de la protéine de capsidite provenant de virions purifiés à partir de foies de lapins infectés par le RHDV montre que cette protéine provient principalement de la traduction de l'ARN subgénomique.

Chez les *Vesivirus*, un précurseur de la protéine de capsidite majeure est initialement synthétisé à partir de l'ARN subgénomique. Ce précurseur subit une étape de maturation durant laquelle survient le clivage de sa partie N-terminale. Ce clivage est réalisé par la protéase virale 3C-like. Ceci a été bien étudié chez le FCV ; ce dernier produit d'abord un précurseur de 76 kDa auquel le clivage retire 124 acides aminés à son extrémité N-terminale et produit ainsi une protéine de capsidite mature de 62 kDa [67].

Comme nous l'avons vu, cette protéine est le composant majeur de la capsidite des calicivirus. Elle a de plus la faculté de s'auto-assembler en pseudoparticules qui ont les mêmes caractéristiques morphologiques et antigéniques que les virions infectieux [18].

### **La protéine structurale mineure (VP2) :**

Tous les calicivirus présentent à l'extrémité 3' de leur génome une petite ORF codant pour une protéine qui fut désignée sous le nom de VP2. Il s'agit de l'ORF2 pour les genres *Sapovirus* et *Lagovirus* et de l'ORF3 pour les *Vesivirus* et *Norovirus*. Les analyses comparatives de la séquence nucléotidique de cette ORF et de la séquence d'acides aminés correspondante chez les différents genres de la famille ont montré que cette région du génome présentait une importante variabilité. En effet il y a seulement 10% de similarité entre les séquences d'acides aminés de la VP2 des différents genres. De plus, cette protéine montre une importante hétérogénéité dans sa taille ; elle varie de 106 acides aminés chez les FCV à 268 chez certains *Norovirus*. L'expression de la VP2 dans les cellules hôtes a été reportée lors d'infections par le FCV et le RHDV. Chez le FCV, le niveau d'expression de la VP2 a été estimé et il correspond à 10% de celui de la VP1. La synthèse de cette protéine fait vraisemblablement l'objet d'une régulation au niveau de sa traduction qui est réalisée à partir de l'ARN subgénomique, mais la nature de cette régulation reste encore méconnue. [6]

En dépit de sa grande variabilité de séquence, la VP2 reste chez tous les calicivirus une protéine extrêmement hydrophile riche en acides aminés basiques. Cette caractéristique rend possible des interactions de type protéine - protéine et /ou protéine - acide nucléique. La VP2 est par conséquent susceptible d'interagir avec l'ARN et les domaines internes acides de la capsidite virale ce qui laisse envisager qu'elle constitue la base structurale de la reconnaissance et de l'encapsidation de l'ARN viral dans les particules virales. [68]

Il a récemment été démontré chez les *Norovirus* que la VP2 pouvait protéger la VP1 de dégradations par des protéases, et augmentait la stabilité des particules virales.



On sait depuis longtemps que la VP2 n'est pas indispensable pour l'auto-assemblage des protéines de capsid en particules virales vides. Cependant il est maintenant établi que la présence de cette protéine est essentielle pour la production de virions infectieux. En effet une étude 2004 a montré que la délétion de l'ORF3 des FCV conduisait à la genèse de virus abortifs. Il a également été constaté lors d'expériences de mutations ponctuelles sur l'ORF3 qu'il existait au sein des virus une forte pression de sélection conduisant à la production d'une VP2 fonctionnelle [71].



## **PARTIE 2 : LES DIFFERENTES MANIFESTATIONS CLINIQUES ASSOCIEES A L'INFECTION PAR LES CALICIVIRUS FELINS.**

### **1. Les manifestations cliniques classiques.**

#### **1.1 Données épidémiologiques.**

Les FCV ont été découverts et décrits comme agents pathogènes du chat pour la première fois en 1957 par Fastier [15]. Les FCV affectent à l'heure actuelle les chats sur tous les continents. De nombreux auteurs estiment que 15 à 25% des chats sains portent un FCV [8].

Les FCV se transmettent horizontalement et il n'y a aucune preuve de transmission verticale de la mère aux chatons durant la gestation.

La contamination des chats par le FCV peut avoir lieu suite à un contact avec :

- un chat infecté en forme aiguë ou chronique
- un chat porteur asymptomatique
- des virions persistants dans l'environnement

Le risque de contamination augmente de façon conséquente dans les environnements où plusieurs chats cohabitent ; c'est particulièrement le cas dans les refuges et chatteries.

L'excrétion des FCV se réalise principalement par l'intermédiaire des sécrétions orales (salive), nasales (jetage) et oculaires. Les FCV sont également présents dans le sang, l'urine et les fèces des animaux infectés [78].

La transmission peut être permise à une distance d'environ 1.2 mètre voire plus par le biais des gouttelettes générées lors de l'éternuement des chats infectés. Une transmission aérienne, par persistance des virions dans l'air, est considérée comme peu probable car les chats ne possèdent pas un volume courant suffisant pour générer un aérosol effectif [26].

#### **1.2 Affection aiguë des voies respiratoires.**

Les FCV sont une cause fréquente d'affection des voies respiratoires hautes chez le chat. On leur attribue selon les auteurs 20 à 53 % des cas d'URTD (upper respiratory tract disease) [26].

L'affection aiguë des voies respiratoires hautes causée par les calicivirus félines apparaît après une période d'incubation de 2 à 10 jours. La nature et la sévérité de la maladie vont dépendre en partie de la souche virale à l'origine de l'infection. L'étude d'un grand nombre de souches de FCV, comme nous le verrons plus tard, n'a cependant pas permis de montrer un lien évident et direct entre les manifestations cliniques et l'antigénicité et l'hétérogénéité de la protéine de capsid des FCV [17].

### 1.2.1 Signes cliniques et lésions induits suite à une infection expérimentale par différentes souches de FCV.

En 1975, Kahn et Hoover [24] ont cherché à étudier la virulence de dix souches de FCV. Ils ont alloué soixante-six chats SPF (specific pathogen free) en 10 groupes et ont exposé chaque groupe à un aérosol contenant des virus d'une des 10 souches étudiées. Tous les chats exposés ont été infectés. Des examens cliniques ont été menés chaque jour et les différents symptômes et lésions recensés. Des prélèvements de chats dans chaque groupe ont été réalisés au cours de l'évolution des infections pour mener des autopsies et dresser un bilan lésionnel complet.

Les signes cliniques et lésions observés pour chaque souche virale sont répertoriés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Signes cliniques et lésions observés lors de l'infection expérimentale de chats SPF par différentes souches de FCV. (d'après Hoover *et al.* [24])

Souche virale	255	AL-5	FPL	FC	F9	17-FRV	CFI	KCD	FJ	F-10
Dépression	10/10*	8/8	6/6	2/6	2/6	0	0	0	0	0
Fièvre	12/12	8/8	5/6	3/6	6/6	0	2/6	1/4	0	0
Toux ou éternuements	0	0	2/6	0	0	0	0	0	0	0
Ulcères de la langue ou du palais	8/12	8/8	6/6	6/6	2/6	4/6	2/6	3/4	0	0
Ulcères des narines	0	1/8	1/6	4/6	2/6	4/6	0	0	1/6	0
Pneumonie	12/12#	8/8#	6/6#	6/6	3/6	4/6	3/6	1/4	1/6	0
Rhinite	0	0	2/6	5/6	0	0	0	0	0	0
Conjonctivite	0	0	0	1/6	0	3/6	0	0	0	0
Trachéite	0	0	0	4/6	0	0	0	0	0	0
Mort	0	0	1/6	0	0	0	0	0	0	0

\* = nombre de chats concernés / nombre de chats infectés par la souche

0 = absence du signe clinique ou de la lésion

# = atteinte sévère

### *Les signes cliniques :*

Les souches virales qui se sont révélées être les plus pathogènes ont généré une hyperthermie (>39.4°C), une anorexie, une dépression et une dyspnée. Ces signes étaient d'ailleurs plus prononcés pour certaines souches telles que FCV-255, AL-5 et FPL. Les FCV les moins pathogènes ont généré peu voire aucun signe clinique ; l'hyperthermie était soit absente soit transitoire (moins d'une journée). Les signes cliniques que l'on retrouve avec la majorité des FCV testés sont : les ulcérations de la langue, du palais dur et des narines. Les lésions linguales pouvaient être initialement vésiculeuses avant de se rompre et de donner un ulcère. Des étternuements occasionnels ont été notés. Le jetage nasal et oculaire ne s'est pas trouvé être dans cette étude une manifestation prépondérante des FCV étudiés.

### *Les lésions observées :*

#### Les poumons :

Les FCV les plus virulents ont engendré de sévères pneumonies. D'un point de vue macroscopique, les lobes pulmonaires présentaient des zones d'induration avec une modification de coloration. En début d'évolution les lésions étaient plutôt focales et rouge clair. Elles sont ensuite devenues diffuses et de coloration rouge-gris à pourpre.

L'examen microscopique de ces lésions en début d'infection (durant les quatre premiers jours post exposition) révéla une pneumonie exsudative affectant les régions profondes du poumon ; c'est-à-dire les bronchioles terminales, les canaux alvéolaires et les alvéoles pulmonaires. Des hémorragies, de l'œdème, des infiltrations neutrophiliques ont pu être constatés dans les alvéoles. L'épithélium alvéolaire pouvait également présenter des foyers de nécrose.

Entre le septième et le quatorzième jour post exposition, les modifications exsudatives ont diminué et les réactions sont devenues principalement prolifératives et interstitielles. L'exsudat alvéolaire est devenu essentiellement composé de cellules mononucléaires. Une hypertrophie, une hyperplasie et enfin une exfoliation des pneumocytes de type II est constatée de façon prépondérante. A partir du quatorzième jour post exposition, un épaississement des septums alvéolaires a pu être constaté en résultat à l'hyperplasie des pneumocytes et à l'accumulation interstitielle de cellules plasmatiques dont des lymphocytes.

Les FCV les moins pathogènes ont causé de légères lésions focales des poumons sans générer des signes cliniques de pneumonies. Très peu d'exsudations ont été constatées. Les lésions étaient surtout du type pneumonie interstitielle avec hyperplasie et exfoliation de pneumocytes et infiltration des septums alvéolaires par des leucocytes mononucléaires et quelques neutrophiles.

#### La muqueuse nasale, la trachée et la conjonctive :

Contrairement à ce qui était attendu, peu des FCV testés causèrent des lésions sur ces tissus. Des rhinites purulentes modérées ont pu cependant être observées lors de l'infection par deux FCV. Chez les chats infectés par ces derniers, il y avait une accumulation d'un exsudat suppuratif dans les cavités nasales, une infiltration par des granulocytes neutrophiles de la muqueuse nasale et des nécroses focales de

l'épithélium mucociliaire. L'étendue des nécroses de l'épithélium était très minime en rapport à la réaction inflammatoire associée.

Une souche de calicivirus généra une conjonctivite purulente et une trachéite purulente.

Les narines :

L'ulcération de l'épithélium des narines est apparue comme étant une lésion associée à de nombreux FCV étudiés ici. En général la fissure médiane du nez est impliquée. L'accumulation d'un exsudat séropurulent et la nécrose de l'épithélium ont formé des lésions croûteuses ressemblant à des excoriations traumatiques. L'examen histologique révéla une nécrose de l'épithélium cutané stratifié avec des ulcères associés et une inflammation purulente.

La cavité buccale :

Les ulcérations de la langue et / ou du palais dur ont été constatées lors de l'infection par 8 des 10 FCV étudiés. Ces ulcères ont un diamètre de 2 à 10 mm et se localisent généralement sur le dos de la langue, dans sa partie antérieure.

Les autres tissus :

Les autres organes ont été observés en détail et aucune lésion n'a été découverte.

1.2.2 Signes cliniques habituels d'une affection des voies respiratoires hautes causée par un FCV.

L'étude présentée précédemment n'est pas représentative de l'affection classique par un FCV. En général, la majorité des cas ne conduisent pas à une atteinte respiratoire profonde. En effet la symptomatologie d'une affection par un FCV est ce que l'on appelait anciennement le « syndrome coryza ».

Les signes cliniques typiques sont d'une part locaux :

- jetage nasal et oculaire séreux ou mucopurulent
- éternuements
- hyperhémie conjonctivale
- blépharospasme
- chémosis

Une glossite ulcérationnelle peut se développer chez certains chats.

Il peut parfois se surajouter des signes généraux :

- une dépression
- une anorexie
- une hyperthermie
- une hypersalivation

Dans des cas plus graves, il peut se développer une pneumonie et on peut observer de la toux et de la dyspnée.

Un chat infecté par un FCV va présenter en général, lors d'une forme aiguë, une mosaïque de signes cliniques présentés ci-dessus. Ainsi, en fonction de la souche virale, de l'état du système immunitaire du chat, de l'existence d'infections concomitantes et de la variabilité individuelle, le cortège clinique qui accompagnera l'infection sera plus ou moins varié et intense.

### **1.3 Affections chroniques.**

Suite à une affection aiguë des voies respiratoires hautes ou de façon indépendante, certains chats peuvent développer une infection persistante de l'oropharynx. Ceci définit l'état de portage des FCV. Ces infections peuvent s'exprimer cliniquement d'une manière extrêmement légère voire même asymptomatique. Les virus sont excrétés de façon continue à partir de ce site bien que la magnitude d'excrétion varie au cours du temps. Ces chats constituent une source majeure de contamination pour leurs congénères. Pour une grande partie de ces chats l'excrétion se termine dans les semaines voire les mois qui suivent une guérison. Néanmoins quelques chats restent excréteurs à vie.

Le complexe gingivo-stomatite chronique féline se caractérise par une expression clinique et lésionnelle variée. On associe à cette dénomination les gingivites, parodontites, palatoglossites et bucco-stomatites chroniques. Les lésions observées peuvent être érythémateuses, érosives, ulcéreuses et ulcéro-nécrotiques.

L'implication des calicivirus félines dans les inflammations sévères de la cavité buccale (« stomatite chronique » ou « stomatite lymphoplasmocytaire ») a été l'objet de nombreuses études. Wardley et Povey en 1977 faisaient déjà référence à l'association du calicivirus félin dans les gingivites et pharyngites chroniques du chat. Il est possible depuis longtemps de créer expérimentalement une infection aiguë de la cavité buccale accompagnée de lésions d'ulcérations orales et palatines. Par contre, aucune infection expérimentale n'a jamais permis d'obtenir des lésions orales typiques de la gingivo-stomatite chronique, même en recréant l'infection à partir de virus isolés chez des chats atteints de gingivo-stomatite chronique [78].

Une étude de Knowles *et al.*, consistant à rechercher des FCV chez trois groupes de chats souffrant de gingivo-stomatite chronique (lésion persistantes ulcératives ou proliférative de la gencive, de la muqueuse buccale, de la langue ou des plis palatoglosses), a permis d'observer une excrétion virale chez 50, 79, 92% des animaux, alors que les chats des trois groupes témoins excrétaient le virus à 0, 19 et 19% respectivement. Ils ont ainsi montré statistiquement que les chats affectés par la gingivo-stomatite chronique étaient plus fréquemment excréteurs du FCV que les chats sains. Reubel *et al.* ont également observé 61% de porteurs de FCV chez des animaux atteints d'affection orale sévère (gingivites chroniques, parodontites chroniques, stomatites, palatoglossites aiguë ou chronique ...), alors que seulement 19% d'animaux sélectionnés au hasard étaient porteurs. Dans l'étude de Thomson

*et al.*, 8 chats sur 10 atteints de gingivite et pharyngite chroniques étaient porteurs de FCV alors que les 10 chats témoins n'étaient pas infectés [31].

Tenorio *et al.* n'ont pas mis en évidence de relation entre le portage du FCV et des formes légères de stomatite chronique, c'est à dire de gingivite. En revanche, les chats présentant des lésions orales chroniques plus sévères étaient plus nombreux à excréter le virus [73].

Knowles *et al.* ont tenté de reproduire des stomatites chroniques par inoculation à des animaux sains de deux souches de FCV issues de chats atteints de stomatite chronique et infectés de façon persistante. Ils ont infecté deux groupes de chats avec ces deux souches (chacun recevant une des deux souches), données pour moitié par voie orale et pour moitié par voie nasale. Tous les chats ont développé les signes cliniques typiques d'une affection aiguë par les FCV, mais aucun cas de stomatite chronique n'a été obtenu, même lors de la réinfection des animaux 65 jours après la première exposition avec la souche à laquelle ils n'avaient pas été exposés. De même, Poulet *et al.* n'ont observé que les signes cliniques d'une affection aiguë par le FCV suite à l'utilisation d'isolats provenant de gingivo-stomatite chronique. Ainsi, aucune étude à l'heure actuelle n'a permis de recréer une gingivo-stomatite chronique uniquement à l'aide d'isolats issus d'animaux infectés [32,51].

Les tonsilles palatines et les plis palatoglosses adjacents sont des sites de persistance et de réplication du FCV chez les porteurs chroniques asymptomatiques, la présence d'une palatoglossite chronique associée au portage du FCV semble donc très probable. Il a été reporté que le FCV se répliquait à l'intérieur des cellules du stratum germinatum (couche basale) chez les porteurs sains. En revanche, Reubel *et al.* ont montré que lors de palatoglossite aiguë, les lésions étaient localisées dans le stratum spinosum (couche épineuse) et dans les veinules de la sous muqueuse, mais ils n'ont cependant pas recherché la localisation du virus lors de la présence de cette lésion inflammatoire. Reubel *et al.* n'ont toute fois pas réussi à reproduire une palatoglossite chronique à l'aide des souches provenant d'animaux présentant cette lésion. Il semble peu probable pour les auteurs que cette lésion soit provoquée par un agent très différent du FCV car 100% des animaux présentant une palatoglossite chronique dans leur étude sont porteurs de FCV ; de plus, les souches isolées ont permis d'obtenir une palatoglossite aiguë ; enfin, les plis palatoglosses sont des sites de persistance du virus [13,63].

La gingivo-stomatite chronique féline est une affection complexe faisant intervenir plusieurs composantes. Le rôle joué par le FCV est de nos jours indiscutable mais non suffisant pour expliquer tout l'aspect lésionnel. Dans cette affection sont souvent impliquées des bactéries parodontales et de façon prépondérante une défaillance du système immunitaire. En effet la réponse immunitaire se trouve dans ce contexte incapable d'éliminer l'agent causal (le virus) mais reste suffisamment forte pour développer une réaction inflammatoire locale.



#### 1.4 Affection aiguë à dominante locomotrice.

Comme nous venons de le voir, les FCV constituent l'une des causes majeures d'infection des voies respiratoires supérieures. Mais à côté du cortège clinique classique, de nombreux cas de boiteries transitoires ont pu être décrits. Ces troubles locomoteurs qui n'étaient pas nécessairement associés à des signes respiratoires ont demandé de nombreuses études avant d'être reconnus comme une manifestation clinique induite par des FCV.

Ce sont des études menées par l'université de Californie en 1983 sous la direction de Pederson qui ont permis de confirmer le lien entre ce syndrome de boiterie transitoire et les FCV. Des chatons furent infectés avec deux souches différentes de FCV qui avaient été isolées de chats présentant des boiteries transitoires. Les chatons ont présenté des signes cliniques 48 à 72 heures après l'inoculation. Le premier signe clinique à apparaître fut une hyperthermie accompagnée d'une dépression et d'une baisse de l'appétit. L'hyperthermie continua à s'accroître et au pic de température, il fut décrit chez tous les chatons des raideurs localisées ou généralisées qui occasionnèrent pour les uns des boiteries et pour certains même l'impossibilité de se mouvoir. Bien qu'aucun des chats ne présentât d'éternuements, ni d'écoulements oculaires, un tiers présenta des ulcères oraux, l'un des signes cliniques classiques de l'infection par les calicivirus félines. Les signes cliniques se sont atténués puis ont disparu en 48 à 72 heures sans laisser aucune séquelle. La raison précise de la boiterie ne fut pas déterminée lors de cette étude mais les auteurs ont noté de la douleur à la manipulation des articulations et une hyperesthésie généralisée [47].

En 1989, sous l'impulsion de Bennet, des études plus approfondies sur cette forme clinique particulière de calicivirose féline furent menées à l'université de Liverpool. Des protéines virales de FCV ont pu être identifiées dans la membrane synoviale de plusieurs chats ayant été vaccinés contre les FCV avec un vaccin vivant atténué ou chez des chats infectés par des FCV. Aucun de ces chats ne présentait néanmoins de signes de boiteries. Des antigènes de FCV furent découverts dans des macrophages et associés à la présence d'anticorps. Ces résultats suggèrent que les antigènes viraux étaient présents dans la membrane synoviale sous la forme de complexes immuns. Des études ultérieures ont permis de mettre en évidence, en plus des protéines virales, des FCV entiers dans la membrane synoviale de chats exposés à des calicivirus, et qui présentaient des signes cliniques incluant les boiteries [1].

En 1994, Dawson *et al.* observèrent en microscopie électronique les tissus articulaires de certains de ces chats et ils ont pu mettre en évidence la présence de processus inflammatoires aigus [12].

Ces études ont permis de plus de montrer qu'il était possible, tout en conservant la voie d'inoculation classique des FCV, c'est-à-dire oronasale, de voir survenir des infections systémiques et en particulier au niveau des articulations où ils peuvent causer de sévères inflammations. Des études expérimentales et des observations de

terrains ont montré que certaines souches de FCV étaient plus à même de déclencher des boiteries chez les chats infectés.

Une des particularités de cette forme clinique est que les boiteries se rencontrent plus souvent chez les chatons et tout particulièrement après leur première vaccination. Dawson *et al.* approfondirent la question en 1993 en étudiant les réactions vaccinales faisant suite aux vaccinations contre les FCV. Sur les 123 réactions vaccinales rapportées lors de l'étude, 80% étaient associées à des boiteries. Ces dernières pouvant être isolées ou associées à d'autres signes cliniques tels que de l'hyperthermie, de la dyspnée ou des ulcérations orales. 96% des ces réactions ont concerné des chats de moins de six mois et 88% de ces dernières faisaient suite à une primovaccination. Cinq vaccins commerciaux différents étaient à l'origine de ces réactions vaccinales mais l'un d'eux représentait 60% des cas. Ce dernier a été par la suite retiré du marché par son fabricant. Les boiteries se déclaraient typiquement 6 à 7 jours après la vaccination. Des FCV ont pu être isolés à partir d'écouvillons oropharyngiens de 71% des chats qui présentaient des réactions vaccinales de boiterie. La souche virale responsable de ces boiteries a été recherchée. Dans la majorité des cas le virus isolé était de type sauvage (souche de terrain) mais parfois ils étaient très proches voire identiques aux souches vaccinales [13].

Toutes ces études ont permis de prouver que les FCV pouvaient causer des polyarthrites transitoires. Cette forme clinique est plus fréquente chez le jeune chat, sa sévérité peut s'étendre de l'arthrite inapparente en passant par des boiteries légères jusqu'aux polyarthrites sévères avec absence de locomotion.

### 1.5 Démarche diagnostique.

Les signes cliniques résultant d'une infection typique par les FCV peuvent avoir pour origine d'autres agents infectieux ; en particulier le *Feline herpesvirus 1*, mais aussi des pathogènes bactériens tel que *Chlamydophila felis* et *Bordetella bronchiseptica* [26].

En effet, le coryza félin est un syndrome infectieux, très contagieux, d'origine primitivement virale (herpesvirus, calicivirus, réovirus, associés à Chlamydia) caractérisé par un syndrome fébrile et par une inflammation à des degrés divers des premières voies respiratoires, de la conjonctive, et éventuellement de la cavité buccale.

Les signes cliniques seuls ne permettent par conséquent pas d'établir un diagnostic étiologique certain. C'est d'autant plus difficile qu'il existe souvent des infections concomitantes de ces divers pathogènes. Ces situations d'infections multiples se rencontrent couramment en chatterie et refuges. Le cortège clinique classique reste, lorsqu'il est associé à des ulcérations orales sévères, fortement évocateur d'une infection par un FCV.

L'obtention d'un diagnostic étiologique certain et définitif est particulièrement encouragé en chatterie. En effet la nature exacte de l'agent pathogène causal

permet de mettre en place des stratégies zootechniques et sanitaires ciblées ; ce qui améliore les résultats de la lutte.

Concernant les chats domestiques individuels, l'investigation étiologique n'est vraiment nécessaire qu'en cas d'échec du traitement symptomatique conventionnel ou de constat d'épisodes récurrents (récidives) d'affection des voies respiratoires supérieures.

Dans les cas les plus sévères il est essentiel de connaître l'origine exacte de l'affection afin d'adopter un traitement spécifique si c'est nécessaire. Par exemple, les chats présentant des signes d'épistaxis, du jetage nasal unilatéral, des déformations de la face, une hypertrophie des nœuds lymphatiques sous mandibulaires extrêmement marqués vont nécessiter la mise en place d'examens complémentaires poussés de telle sorte à éliminer d'autres affections des voies respiratoires supérieures telles que :

- une néoplasie
- des polypes nasopharyngiens
- une coagulopathie
- des corps étrangers
- une affection dentaire
- une cryptococcose

#### *Le diagnostic étiologique :*

Les deux méthodes les plus sensibles pour identifier une infection par un FCV sont l'isolement viral en culture cellulaire et la RT-PCR [26].

L'isolement viral se fait en général en culture de cellules CrFK. Le prélèvement qui est initialement traité par des antibiotiques est inoculé à une monocouche cellulaire arrivant à confluence. Le tout est mis en incubation à 37°C, 4.5%CO<sub>2</sub> pendant 4 jours. Chaque jour les effets cytopathiques générés habituellement par les FCV sont recherchés sur la culture cellulaire. Un échantillon est considéré comme négatif si après trois passages aucun effet cytopathique n'est observé.

La RT-PCR (Reverse transcription-polymerase chain reaction) a été adaptée à l'identification des FCV par Sykes en 1998. Le segment amplifié est une séquence de 670 à 680 nucléotides qui inclut la région hypervariable du gène de la protéine de capsid. L'utilisation d'enzymes de restriction sur la séquence amplifiée permet par la suite de rapidement déterminer la souche virale concernée [72].

L'isolement viral est plus cher à réaliser et est moins pratique pour un diagnostic de routine. La sensibilité de la RT-PCR à détecter de très faibles quantités de virus dans les prélèvements de muqueuse peut diminuer en raison d'une part de la présence de ribonucléases capables de dégrader l'ARN viral dans les sécrétions muqueuses, et d'autre part en raison de la forte variabilité génomique des calicivirus. Les améliorations des techniques de PCR sont toujours d'actualité. En 2004, une étude a montré la bonne sensibilité d'une technique de diagnostic des infections par les FCV en utilisant une PCR nichée [40].

Les écouvillons oropharyngiens constituent le prélèvement de choix afin d'établir un diagnostic. Cependant, si c'est possible, l'ajout de prélèvements nasaux et conjonctivaux aux échantillons oropharyngiens permet d'augmenter de façon conséquente la probabilité d'avoir un résultat positif. Les écouvillons doivent être transmis au laboratoire dans de bonnes conditions. Il existe des écouvillons commerciaux dont le conditionnement et la composition répondent à toutes les exigences de conservation des virus [26].

L'immunofluorescence sur cytologie ou échantillons tissulaires a été également utilisée pour diagnostiquer les infections par les FCV, mais cette technique est moins sensible que les deux précédentes et la présence de débris fluorescents non spécifiques peut être associée avec des résultats faux positifs.

La sensibilité de l'isolement viral à partir d'écouvillons oropharyngiens prélevés sur des chats en phase aiguë ou à partir d'échantillons tissulaires prélevés lors d'autopsies était proche de 90% durant l'épizootie de VS-FCV qui toucha le Sud de la Californie en 2002. Des résultats d'isolement viral sur cultures cellulaires ont également été positifs à partir d'échantillons sanguins sur des chats en phase aiguë d'infection. La sensibilité reste cependant plus faible qu'à partir des échantillons oropharyngiens. En raison de l'état de portage chronique, les cultures positives à partir d'échantillons sanguins sont néanmoins un indicateur plus spécifique des infections aiguës. La sensibilité de l'isolement viral à partir d'écouvillons oropharyngiens diminue rapidement chez les chats convalescents et un écouvillonnage unique négatif prélevé une semaine après l'apogée des signes cliniques ne permet pas d'écarter une infection par les FCV.

Pour pouvoir conclure qu'un animal guéri n'est plus excréteur, il faut réaliser deux à trois mises en cultures négatives espacées d'une semaine. En effet, il avait été constaté qu'après une période de dix semaines après la guérison, les prélèvements réalisés sur certains chats étaient encore positifs de façon intermittente.

En général, la sérologie n'est pas recommandée en routine pour le diagnostic des infections à FCV. En effet la forte pression d'exposition aux FCV et le grand nombre d'animaux qui sont infectés sans développer une maladie clinique rend difficile l'interprétation des sérologies. Il faut à cet effet multiplier les prélèvements et les réaliser en phase aiguë et de convalescence. Les titres en anticorps obtenus avec la vaccination peuvent aussi interférer avec le diagnostic. Et enfin, en raison du grand nombre de souches de FCV différentes, les titres en anticorps peuvent varier selon le degré d'homologie entre le virus infectant et la souche de FCV utilisée pour l'analyse.

## 1.6 Prophylaxie et démarche thérapeutique.

La vaccination contre les FCV fait partie des vaccinations de routine chez les chats. Elle consiste à deux injections de primovaccination espacées de trois semaines et ensuite à un rappel annuel. Les particularités et l'efficacité de cette vaccination seront développées dans la troisième partie [26].

Le traitement des caliciviroses félines classiques est symptomatique.

Une antibiothérapie large spectre peut être nécessaire en cas de surinfection secondaire.

On peut utiliser par exemple :

- amoxicilline, VO, 22mg/kg/12h
- doxycycline, VO, 12mg/kg/24h

Une fluidothérapie et un support nutritionnel seront envisagés dans les cas les plus sévères. Une humidification des voies respiratoires peut aussi être mise en place. Les pneumonies nécessiteront parfois une oxygénothérapie. Lors d'anorexies prolongées, l'utilisation de sondes nasogastrique ou nasooesophagienne est envisagée.

Les affections chroniques de la cavité buccale nécessitent généralement dans un premier temps une thérapeutique permettant une amélioration de l'hygiène buccodentaire (traitement parodontal hygiénique, extraction dentaire, soins locaux). Il s'ajoute ensuite une antibiothérapie et une thérapeutique anti-inflammatoire et immunosuppressive. Un régime alimentaire adapté est souvent associé.

## 1.7 L'hétérogénéité génique et antigénique de différents FCV isolés de manifestations cliniques diverses.

Nous venons de voir dans les parties précédentes qu'une infection par un FCV peut avoir des conséquences cliniques très variées. En effet nous avons vu que la majorité des FCV génèrent une affection aiguë des voies respiratoires, avec généralement une atteinte haute mais causant parfois des atteintes profondes plus graves. Certains FCV génèrent des boiteries, alors que d'autres FCV sont impliqués comme agents de stomatites chroniques.

Une problématique se pose : peut-on regrouper sur des bases géniques et / ou antigéniques les FCV générant une même dominante clinique ?

Plusieurs études ont été réalisées dans l'optique de résoudre cette problématique.

En 1996, Geissler *et al.* décident de comparer avec plusieurs méthodes cinq isolats de FCV issus de différentes manifestations cliniques. Parmi ces isolats, deux étaient associés à des stomatites chroniques, un à une stomatite aiguë, un autre à une affection respiratoire aiguë et enfin un à des arthrites. Le gène de capsid de ces

différents FCV fut cloné et séquencé et la séquence d'acides aminés fut déduite. Les données obtenues à partir de ces cinq isolats ont été comparées à des résultats déjà publiés issus de l'étude de huit autres souches [17].

L'analyse génétique indiqua que la séquence de la protéine de capsid n'était pas corrélée avec les signes cliniques provoqués par chaque isolat. C'est particulièrement vrai pour les isolats générant des arthrites, qui bien que moins fréquents et plus spécifiques, n'ont présenté aucun point commun. Par contre des regroupements d'isolats ont pu être réalisés à partir de leur région géographique d'origine, indépendamment des signes cliniques qu'ils génèrent. C'est le cas des souches allemandes qui étaient regroupables. En refaisant l'analyse phylogénétique en n'incluant que la région hypervariable E, les résultats ont été sensiblement identiques. Cette région de la protéine de capsid code pour une grande partie des épitopes dirigeant la synthèse d'anticorps neutralisant du virus ; l'importance de cette région sera développée ultérieurement.

Des comparaisons basées sur l'antigénicité des isolats viraux ont été menées en parallèle. Dans un premier temps, deux panels d'anticorps monoclonaux ont été générés à partir de deux souches, l'une prélevée lors de stomatites chroniques et l'autre issue de chats présentant des symptômes respiratoires. Chaque type d'anticorps monoclonal a été testé sur les différentes souches virales. Les résultats ont d'abord montré qu'aucun des isolats n'a réagi avec l'ensemble des anticorps monoclonaux. De plus les isolats générant la même expression clinique n'ont pas présenté plus d'épitopes en commun. Par contre il a pu être remarqué que deux épitopes étaient en commun chez presque toutes les souches testées.

## **2. La forme épizootique et hautement pathogène.**

### **2.1. Description du déroulement des trois principales épizooties.**

Nous allons maintenant décrire comment se sont déroulées trois épizooties à VS-FCV. Une telle approche descriptive permet de bien comprendre les circonstances de l'initiation de chaque épizootie. De plus, les événements témoignent parfaitement de la forte contagiosité de l'agent viral et de la gravité de l'expression clinique.

#### **2.1.1. La crise de 1998 au nord de la Californie : FCV-Ari**

Cette épizootie, la première à être décrite, a touché une clinique du nord de la Californie. Sept chats ont été affectés et deux sont décédés (létalité de 28%) [49].

Le cas index responsable de cette épizootie de VS-FCV était probablement un chaton femelle de 4 mois issu d'un refuge de la région. Ce chaton souffrait d'une sévère atteinte respiratoire haute. Le chaton a été hospitalisé à la clinique le 17 septembre 1998 afin d'assurer son traitement. Le chaton développa rapidement des croûtes et des ulcères sur la face et des vésicules sur la langue et le palais mou. Il fut intensément traité pendant 40 jours avant d'être suffisamment bien pour être mis

à l'adoption. Le chaton présenta une intussusception une semaine plus tard et mourut.

Le second à être atteint se nommait Ria, il s'agissait d'une femelle stérilisée de 6 ans, vivant strictement en intérieur, et qui appartenait à un aide vétérinaire de cette même clinique. Ce chat avait reçu sa dernière vaccination incluant la valence calicivirus le 10 avril 1997. La seule exposition de cet animal hors du domicile de ses propriétaires fut une brève hospitalisation pour une prophylaxie dentaire le 8 octobre 1998. Ria présenta le 12 octobre 1998 un état léthargique fébrile associé à de l'anorexie. L'examen clinique ne mit en évidence aucune anomalie hormis une hyperthermie. Des tests rapides de diagnostic du FIV et du FeLV ont été menés et se sont révélés négatifs. Des analyses biochimiques de routine et une numération sanguine ont également été réalisées mais n'ont rien révélé d'anormal. Ce même jour fut observé une légère tuméfaction sur le dos du nez qui s'étendait entre les deux canthus internes des yeux. Peu de temps après, des dépilations de la partie droite du nez se déclarèrent et révélèrent une plage érythémateuse de 5 mm de diamètre avec un centre nécrotique noirâtre. Ria fut renvoyée à son domicile tout en restant sous étroite surveillance. Mais le 14 octobre 1998, elle fut ramenée à la clinique car l'état fébrile était toujours présent avec une profonde léthargie et anorexie. De nouvelles lésions ont été découvertes à cette occasion : des croûtes, de l'érythème et des épilations étaient présents au niveau du canthus médial gauche et droit, à la commissure de la bouche, et sur le bord des deux oreilles. Un œdème cutané diffus a pu également être identifié sur la face et en région mandibulaire et à l'extrémité des membres. Des biopsies furent réalisées sur les lésions nasales et auriculaires et des écouvillonnages de plusieurs plaies furent collectés afin de mener une mise en culture bactérienne aérobie de routine. Ria était encore fébrile le 15 octobre 1998, mais son état s'améliorait : elle recommençait à manger et à se toiletter. Les biopsies cutanées révélèrent une dermatite périvasculaire lymphoplasmocytaire et neutrophilique multifocale d'intensité modérée à sévère, une pyodermite superficielle, une ulcération extensive avec nécrose superficielle du derme avec une vascularite sous-jacente. La culture bactérienne ne donna aucun résultat et aucun organisme infectieux ne fut observé sur les lames réalisées. Ria fut traitée avec de la prednisolone et des antibiotiques ; les deux jours qui suivirent elle mangea bien tout en se nettoyant activement ; l'œdème cutané se résorba et les lésions cutanées ont progressivement cicatrisé.

Le troisième chat affecté, Indy, était un jeune chat de 4 mois qui vivait en intérieur et en extérieur. Il fut amené à la clinique le 12 octobre 1998 pour castration et pour sa seconde injection de primovaccination. Indy fut reconduit à la clinique le 17 octobre 1998 pour dépression et fièvre. Les anomalies révélées par la biochimie sanguine furent : une légère augmentation de la créatinine phosphokinase (CPK) et de la bilirubine totale. Les tests contre le FIV et le FeLV furent négatifs. L'animal fut perfusé et mis sous antibiotiques. La fièvre s'estompa le 19 octobre 1998, mais des lésions ulcératives apparurent sur les bords des deux pavillons auriculaires le lendemain. Le chat poursuivit ensuite sa convalescence et sa guérison sans particularité.

Le quatrième chat, Garth, était un chat mâle castré de 5 ans qui vivait en intérieur et extérieur et partageait la maison du chat précédent (Indy). Ce chat avait reçu depuis qu'il était chaton le protocole vaccinal classique avec un rappel annuel. Il fut présenté

à la clinique le 16 octobre 1998 pour une légère conjonctivite. Il retourna chez lui le jour même avec comme traitement un collyre antibiotique. La conjonctivite passa sans problème mais deux semaines après, le propriétaire remarqua des plaques d'alopecie et des croûtes sur le nez et à la base des oreilles.

Le cinquième chat de cette épidémie est Aristotle (Ari), un chat mâle castré de 3.5 ans vivant strictement en intérieur. Il s'agissait de plus du fils de Ria, un chat dont on a parlé précédemment. Ce chat était jusqu'alors en bonne santé, bien vacciné et testé négatif contre FIV et FeIV. Il a été présenté à la clinique le 18 octobre 1998 car il présentait depuis deux jours une forte léthargie apparue subitement et une anorexie concomitante. Une légère boiterie de l'antérieur droit a été notée par les propriétaires deux jours auparavant mais elle s'estompa spontanément. Le chat vomit par la suite un fluide couleur bile avec du sang. L'examen clinique mit en évidence une hyperthermie et de petites lésions croûteuses sur la lèvre inférieure. Ari fut représenté en consultation le 21 octobre 1998, moins fébrile, plus alerte mais toujours anorexique et légèrement déshydraté. Un œdème facial diffus a été constaté et des ulcérations ont été notées principalement autour du nez et sur le pavillon auriculaire gauche. Le pourtour des lèvres présentait aussi des lésions croûteuses et érythémateuses. Une fluidothérapie fut mise en place, de même qu'un traitement antiémétique à base de métoclopramide et une antibiothérapie large spectre de première intention. Le 22 octobre, Ari était dans un état constant, sans fièvre et présentait toujours une anorexie. L'œdème facial s'accrut légèrement mais les zones ulcérées semblaient moins exsudatives. Le membre antérieur droit devint lui aussi légèrement œdématisé. Le 23 octobre l'état resta stationnaire, sans aucune amélioration. Le chat a été référé à l'école vétérinaire de Davis pour des examens plus poussés. La biochimie sanguine révéla une augmentation modérée de la créatinine phosphokinase (CKP), et de la bilirubine totale et une légère hypoprotéinémie. Il y avait des preuves de coagulopathie avec une augmentation modérée des temps de Quick (TQ) et de thrombine (TT) et un temps de céphaline activé (TCA) légèrement allongé. Un FCV a pu être mis en évidence en culture cellulaire à partir de prélèvements sanguins et d'écouvillonnages nasaux. L'isolat de VS-FCV ainsi découvert est désormais dénommé « FCV-Ari ». Le 24 octobre, Ari était toujours normotherme mais restait anorexique et l'œdème facial s'était fortement accentué. Les lésions cutanées de la face étaient devenues coalescentes et avaient formé une croûte large et irrégulière de part et d'autre du nez. Les muqueuses devinrent légèrement ictériques. Une sonde naso-oesophagienne fut mise en place pour assurer la nutrition de Ari. Ari sembla plus réactif le 25 octobre mais resta toujours anorexique et présenta toujours une hypocoagulabilité sanguine. Le 26 octobre, le chat était stable. Une transfusion fut réalisée avec du sang total et une thérapie à faible dose d'héparine fut mise en place pour contrecarrer une possible CIVD (coagulation intravasculaire disséminée). Une perfusion de colloïdaux fut également réalisée. Dans la soirée de nouvelles analyses sanguines furent menées et montrèrent toujours une coagulopathie, une hypoprotéinémie et une hyperbilirubinémie. Le 27 octobre, Ari restait alerte, normotherme mais présentait des épisodes de diarrhée aqueuse et exprimait une légère dyspnée. Le taux d'hématocrite diminua, l'hypoprotéinémie s'accrut et le temps de céphaline activé (TCA) s'allongea. Une seconde transfusion de sang total fut menée. La dyspnée s'aggrava au cours de la journée ; une thoracocentèse fut réalisée dans la soirée et un transsudat jaunâtre fut recueilli. Une troisième transfusion fut menée le lendemain et du liquide pleural fut encore retiré. Les traitements continuèrent et l'état de Ari



s'aggrava. L'œdème et les lésions croûteuses milliaires se généralisèrent à l'extrémité distale des membres. Ari est mort le 8 novembre des suites de la complication d'un pneumothorax, de choc cardiovasculaire et enfin d'arrêt cardiaque.

Ian, un chat mâle castré de 3.5 ans, lui aussi fils de Ria, fut le sixième chat à être affecté. Le 21 octobre 1998, le propriétaire observa que Ian était fébrile et qu'il manifestait des signes similaires à ceux présentés par sa mère quelques jours auparavant. Il était bien vacciné et avait été testé négatif pour le FeIV et le FIV au mois d'août de cette même année. Ian était léthargique et éternuait occasionnellement. L'examen clinique mit en évidence un œdème léger du nez, des plaques érythémateuses et des croûtes à répartition milliaire sur les oreilles. Ian fut conduit à l'école vétérinaire de Davis où des prélèvements sanguins et des écouvillonnages nasaux furent réalisés. Un FCV génétiquement identique à celui isolé précédemment sur le chat Ari fut isolé après mise en culture cellulaire des prélèvements. Le 23 octobre, Ian était toujours fébrile chez son propriétaire mais s'alimentait toujours. L'œdème facial et le nombre de croûtes s'amplifièrent. Les éternuements persistèrent et une congestion nasale fut notée. Le 28 octobre Ian éternuait toujours et les lésions faciales étaient devenues coalescentes. Mais son appétit et son attitude n'ont fait que s'améliorer et il a présenté une guérison sans événement particulier.

Le septième chat de cette épidémie fut Emma, une femelle stérilisée de 2.5 ans qui vivait strictement en intérieur. Emma a été testée négative pour le FeIV et FIV alors qu'elle était chaton et sa dernière vaccination datait de juin 1996. Emma appartenait à un autre assistant vétérinaire de la clinique. Elle a été présentée en consultation le 4 novembre 1998 suite à un épisode de deux jours de léthargie et d'anorexie. L'examen clinique mit en évidence une hyperthermie, une déshydratation modérée et une certaine tension à la palpation abdominale. L'animal fut hospitalisé et une fluidothérapie et une antibiothérapie de première intention ont été mises en place. La biochimie sanguine montra une légère hyperbilirubinémie et hyperglycémie. Les tests FIV et FeIV menés furent négatifs. Le 5 novembre, Emma était déprimée, anorexique, fébrile et hyperirritable. L'hyperthermie s'accrut dans la soirée et son membre postérieur gauche apparut enflé. Le lendemain des œdèmes ont été notés sur le nez et des plaques d'ecchymose sont apparues sur l'abdomen caudal. Une sonde naso-oesophagienne fut mise en place afin d'assurer l'alimentation de l'animal. Le jour suivant, Emma présenta une légère dyspnée et parut encore plus fatiguée que la veille avec une diminution du taux d'hématocrite et de la concentration en protéine plasmatique. Un traitement vigoureux fut mis en place pour contrer l'installation de cette hypoprotéinémie et de la probable CIVD : perfusion de colloïdaux, héparine en sous-cutané, antibiothérapie intraveineuse et toujours l'alimentation assistée. La fièvre tomba mais la dyspnée s'était accentuée. Une thoracocentèse fut menée mais elle ne permit la récolte que de très peu de liquide d'épanchement. Sa dépression et sa dyspnée s'accrurent et elle devint hypothermique dans la soirée. Le 8 novembre les résultats sanguins s'aggravèrent avec en plus une thrombocytopénie et un allongement du temps de céphaline activé (TCA). Un traitement à base de furosémide et de dobutamine fut tenté en vain et la détresse respiratoire s'accrut. Les conditions d'Emma continuèrent à décliner et les propriétaires décidèrent de l'euthanasier le 9 novembre 1998.

### 2.1.2. La crise de 2001 dans le Massachusetts (Nouvelle Angleterre) : FCV-Diva

Cette épidémie dura deux semaines et concerna 24 chats d'une clinique vétérinaire. [64]

Le cas index n'a pas été identifié avec précision mais le VS-FCV qui causa cette épidémie est considéré comme provenant d'un groupe de cinq chats issus d'un refuge de la région et qui avaient été admis à la clinique entre le 12 et 19 mars 2001. Deux de ces 5 animaux (chats 1 et 2) ont manifesté de la fièvre, de sévères ulcérations orales, de l'œdème facial. Les trois autres chats ont été hospitalisés dans une salle séparée. Une désinfection systématique des surfaces d'examen, des cages et des sols a été réalisée dans cette clinique avec des agents phénolés et de l'eau de Javel. Sur les cinq chats, deux sont morts de leur affection à l'hôpital, un autre a été euthanasié car il était moribond et les deux derniers se sont rétablis et sont retournés dans leur refuge.

Durant la durée du traitement des chats précédents, c'est-à-dire du 15 au 24 mars, des chats ont été admis à la clinique pour des chirurgies de convenance. Huit de ces chats sont revenus en consultation progressivement après l'intervention pour anorexie et fièvre (chats 6,8,9,10,11,12,13,14). Le premier de ces chats (chat 6) fut représenté en consultation le 19 mars avec une fièvre d'origine indéterminée, il avait été castré le 15 mars. Il fut hospitalisé jusqu'au 26 mars dans la zone d'hospitalisation générale et traité contre une éventuelle infection postopératoire (fluidothérapie et antibiothérapie large spectre). Le chat 7, qui vivait dans la même maison que le chat 6 et qui n'avait eu aucun contact direct récent avec la clinique, fut présenté en consultation le 26 mars pour fièvre. Le même jour, trois jeunes chats mâles (chats 8,9,10) qui avaient été castrés la semaine d'avant, sont présentés pour les mêmes raisons.

Durant son traitement, l'état général du chat 6 se dégrada rapidement, développant un important œdème de la face et des membres, un épanchement abdominal, un ictère et une bilirubinurie. La biochimie sanguine montra une hypoprotéïnémie marquée, une hyperbilirubinémie, une hypochlorémie et hyponatrémie. Le chat est mort le 29 mars et des examens cytologiques et histologiques post mortem ont été menés. Le liquide d'épanchement abdominal consistait en un exsudat inflammatoire stérile. Un test sérologique contre la PIF s'est révélé négatif alors qu'une PCR sur le liquide d'épanchement s'est révélée positive. Le résultat histopathologique prépondérant est le constat d'une sévère pancréatite. Le poumon présente des lésions de pneumonie interstitielle suraiguë. Les ulcères cutanés montrèrent en histologie des lésions de dermatite nécrosante avec vascularite et thrombose. Le foie montra des lésions de congestion chronique passive et de nécrose. À la vue de ces résultats aucun agent causal ne fut pressenti par l'histopathologie. Le chat 7, qui suivait la même évolution clinique, fut euthanasié le 31 mars. Aucune autopsie ne fut réalisée sur ce dernier sur demande du propriétaire.

En raison de la nature très contagieuse de ce pathogène, les vétérinaires de la clinique concernée ont demandé une assistance auprès d'un organisme équivalent aux services vétérinaires français : « Bureau of Animal Health ». Un vétérinaire épidémiologiste est venu étudier le problème le premier avril afin d'optimiser les mesures de désinfection et de prévention des contaminations. À ce moment là de

l'épidémie, aucun agent pathogène n'est encore été isolé, mais un agent viral est fortement suspecté au regard de la fièvre persistante et de la non réponse aux antibiotiques large spectre. A la suite de cette visite, les locaux et le matériel furent décontaminés selon les recommandations et le désinfectant choisi fut de l'eau de Javel à 10%. La clinique n'a plus accepté de nouvelles consultations félines pendant 10 jours. Les vétérinaires des alentours et les cliniques qui prirent en charge les cas référés furent avertis de l'épidémie qui venait de frapper. Les clients qui avaient amené leurs animaux en consultation durant la période de l'épidémie, furent contactés, informés et sensibilisés sur les signes cliniques qui pourraient survenir chez leur animaux. L'équipe médicale a mis en place deux pédiluves avec de l'eau de Javel, l'un à l'entrée de la clinique et l'autre à l'entrée de la salle d'hospitalisation réservée aux animaux contagieux.

Un chat (chat 15) appartenant à un employé de la clinique qui avait longuement manipulé le chat 6 à l'occasion de soins, développa le 28 mars une anorexie accompagnée de fièvre et de boiteries, bien que ce chat n'ait jamais été amené à la clinique. Ce chat fut traité à domicile, il reçut une fluidothérapie sous-cutanée et une antibiothérapie large spectre. Son état s'aggrava et il présenta rapidement de l'œdème au niveau des membres et des ulcères oraux. Une biochimie et une numération sanguine furent réalisées ; elles révélèrent une sévère lymphopénie, une hypoprotéinémie et une hyperbilirubinémie. Des mises en culture sanguine et fécale furent négatives pour les principaux pathogènes bactériens. Une sérologie pour les coronavirus félin s'est révélée positive à un titre de 1 :800. La santé de ce chat ne fit que décliner et il fut euthanasié le 31 mars. Des tissus furent prélevés et envoyés sous le conditionnement adéquat à un laboratoire afin de réaliser un isolement viral. Après 20 heures de culture, un FCV fut identifié. L'isolat viral obtenu lors de l'isolement viral a été envoyé à l'école vétérinaire de Davis pour être mieux caractérisé. Les résultats histopathologiques montrèrent des abcédations multifocales de légères à modérées des cryptes et des glandes intestinales. Le tissu pancréatique montra une hyperplasie nodulaire des acini.

Le 5 avril, la nature de l'agent causal a été confirmée, il s'agissait bien d'un FCV.

Après la découverte de l'agent étiologique, les efforts se sont portés aux soins des animaux (chats 11,14,21,22,23) qui avaient été contaminés lors d'un passage à la clinique durant l'hospitalisation du chat 6. Les soins et examens de ces animaux ont été réalisés dans la zone d'isolement. Ils ont présenté des signes cliniques moins sévères de fièvre, d'anorexie et des ulcérations orales. Ils ont été traités dans la mesure du possible à domicile pour réduire l'excrétion virale dans l'environnement de la clinique afin de prévenir de nouvelles expositions.

La dernière contamination lors du passage d'un chat à la clinique a eu lieu le 21 mars. Ce jour-là une chatte (chat 21) a été admise pour ovariohystérectomie. Le propriétaire, lorsqu'il est venu récupérer cette dernière, a en plus apporté trois des derniers chatons de cette chatte (chats 22,23,24), âgés de 5 mois, pour qu'ils soient vaccinés. Un vétérinaire de la clinique a recontacté ce propriétaire le 2 avril afin de l'avertir et de le prévenir des signes annonciateurs d'une éventuelle contamination. Le propriétaire reporta que ses quatre chats ne voulaient plus manger et étaient léthargiques. Après un examen clinique, ses chats furent traités à domicile. La mère était la plus sévèrement atteinte, présentant des lésions de pododermatite ulcérate. Des prélèvements sanguins et des écouvillonnages oropharyngiens ont été réalisés afin de faire un isolement et une caractérisation virale. Un FCV (FCV-Diva) fut isolé en culture cellulaire à partir des prélèvements du chat 24.

D'autres chats (chat 16,19,20), appartenant à la clinique, ont été exposés durant l'hospitalisation du chat 6. Bien que ces chats aient un protocole vaccinal à jour complet et qu'ils soient isolés dans une pièce spécifique de la clinique pour limiter les risques de transmission, ils développèrent des signes de fièvre, d'anorexie et des ulcérations orales. Ces chats ont été euthanasiés car la clinique ne pouvait pas prendre le risque de garder des chats éventuellement porteurs de ce virus une fois guéris.

Deux chats de 8 mois (chats 17 et 18), appartenant au même propriétaire, ont été conduits le 30 mars immédiatement dans la zone d'isolement alors qu'ils venaient d'être frappés de fièvre. Ces deux chats se sont révélés être positifs au test d'isolement viral pour un FCV à partir d'écouvillonnages oropharyngiens.

### 2.1.3. La crise de 2002 au sud de la Californie : FCV-Kaos

Cette épizootie dura deux mois, entre juin et août 2002 ; elle impliqua trois cliniques vétérinaires (C1, C2 et C3) et un refuge à l'ouest de Los Angeles et concerna 54 chats. [25]

La clinique C1 est un complexe hospitalier vétérinaire constitué de trois bâtiments indépendants (C1a, C1b et C1c). Chaque bâtiment est occupé par un service spécialisé qui fonctionne indépendamment des autres. C1a assure les consultations générales et prend en charge les animaux de diverses associations et refuges. C1b est un centre de référent de chirurgie et assure les urgences et les hospitalisations nécessitant des soins de nuit. C1c assure également des consultations générales.

Les quatre premiers chats à être atteints ont été une chatte et ses trois chatons (chats 1,2,3,4), qui appartenaient à un refuge. Ces quatre chats ont été hospitalisés à la clinique C1a pour être stérilisés entre le 17 et le 24 juin. Aucun de ces chats ne présentait de problèmes de santé lors de l'admission à la clinique à l'exception d'un des chatons (chat1) qui apparut fébrile au moment de son retour au refuge. Approximativement une semaine plus tard, les quatre chats sont devenus fébriles, ils ne voulaient plus se déplacer et présentaient des ulcérations orales. De plus le chat 1 développa des pustules sur les pavillons auriculaires et des croûtes sur le nez. Ces quatre chats ont ensuite entièrement guéri et n'ont pas été par la suite retrouvés pour assurer un suivi. L'infection de ces chats par un VS-FCV n'a pas été confirmée par un isolement viral mais ils furent classés comme des cas possibles sur la seule base de leurs signes cliniques.

Aucun autre chat examiné dans la clinique C1a durant la période décrite ici ne montra des signes de maladie inhabituelle ou d'affection des voies respiratoires hautes. Tous les chats infectés à partir de ce moment-là ont été de façon directe ou indirecte exposés au chat 1 ou à un chat lui-même exposé au chat 1. Dans le refuge d'où venait le chat 1, quasiment tous les chatons ayant été à son contact (23 sur 25) ont présenté des signes d'infection par un VS-FCV. Dans le même refuge, des chatons isolés des précédents et n'ayant jamais eu de contact avec le chat 1, n'ont présenté aucun problème de santé.

Il n'y eut aucun mouvement de chats entre les bâtiments C1a et C1b pendant la période d'hospitalisation des quatre premiers cas vu précédemment. Cependant, un

technicien dans le cadre de son travail a fait des allers-retours entre les deux bâtiments, en particulier la nuit. Le premier chat à avoir été identifié comme infecté à la clinique C1b était un chat mâle castré de 5 ans, vacciné et vivant strictement en intérieur. Il avait été hospitalisé dans la nuit du 21 juin à la suite d'une intervention chirurgicale de retrait d'un corps étranger intestinal mené dans une autre clinique. Le chat était fébrile le 22 juin et mourut dans les 24 heures d'une défaillance cardiorespiratoire. Un isolement viral et un séquençage génétique révélèrent plus tard qu'il était infecté par FCV-Kaos (le VS-FCV responsable de cette épizootie).

Durant la semaine qui suivit, douze chats hospitalisés à la clinique C1b et deux chats appartenant à un employé de cette même clinique ont développé les signes cliniques suivants : forte hyperthermie, œdème de la face et des membres avec parfois mort subite. Cinq de ces chats étaient initialement en convalescence suite à une chirurgie et l'apparition soudaine de ces signes cliniques fut initialement rattachée à une éventuelle complication post chirurgicale. Cependant les sept autres chats atteints étaient jusque là en bonne santé ; certains étaient donneurs de sang, d'autres en pension, et ils occupaient tous une salle séparée et réservée de la clinique. Trois de ces chats sont décédés.

Suite au constat de l'infection de ces derniers chats, l'équipe vétérinaire suspecta un agent infectieux. Le 29 juin, les chats survivants de l'infection furent retirés dans une zone d'isolement stricte et toute la clinique (incluant salles, cages, instruments) fut entièrement nettoyée puis désinfectée avec une solution d'eau de Javel à 5% (hypochlorite de sodium) diluée au 1/32<sup>ème</sup>. Cette clinique était habituellement désinfectée en routine avec des ammoniums quaternaires. Aucun nouveau chat ne fut admis à la clinique pendant une durée d'une semaine.

Suite à ces mesures sanitaires, aucune nouvelle transmission à de nouveaux chats ne fut constatée dans la clinique C1, à l'exception d'un animal. Ce dernier, un chat mâle castré de 14 ans fut hospitalisé de journée dans le bâtiment C1b puis de nuit dans le bâtiment C1c pour la régulation d'un diabète sucré du 22 au 30 juin. Il retourna chez lui le 30 juin en apparente bonne santé. Il fut revu à la clinique (C1b et C1c) plusieurs fois dans le cadre de son diabète sucré entre le 11 et 24 juillet. Cependant, il est devenu fébrile le 26 juillet et a présenté le lendemain des ulcères oraux et des œdèmes de la face et des membres. Il fut euthanasié le 28 juillet. Le dernier animal infecté dans la clinique C1b fut un chat qui avait été hospitalisé du 24 au 26 juillet pour la réduction d'une fracture de la mâchoire. Le chat était cliniquement bien lors du retour chez son propriétaire le 26 juillet. Mais trois jours plus tard il présenta de la fièvre, des œdèmes de la face et des membres et décéda le 5 juillet. Pour ces deux derniers chats l'infection par FCV-Kaos a été confirmée par isolement viral et séquençage génétique.

Les deux premiers chats à être infectés dans la clinique C2 vivaient dans la même maison que le chat 5 vu précédemment. Ces deux chats furent examinés le 26 juin ; ils présentaient de la fièvre et des signes d'affection des voies respiratoires hautes. Ces chats n'avaient eu aucun contact direct avec le chat 5 après son hospitalisation à la clinique C1. Par contre les propriétaires de ces chats étaient venu plusieurs fois voir le chat 5 durant son hospitalisation. On pense qu'ils ont transmis le virus à leurs deux autres chats par l'intermédiaire de sécrétions biologiques (orales, nasales, oculaires) qu'ils ont du contracter et transporter sur eux suite aux contacts étroits avec leur chat malade. Le troisième chat infecté était venu à la clinique le 28 juin pour réaliser une courbe de glycémie dans le cadre du suivi de son diabète sucré. Ce chat avait été à cette occasion hospitalisé dans la même pièce que les deux chats

vus précédemment. Il est retourné chez lui sans problèmes le soir même ; mais huit jours plus tard, il fut conduit à la clinique C1b où il a été constaté : une anorexie, des ulcérations orales, un ictère et de l'œdème aux quatre membres. Il fut pris une décision d'euthanasie.

Ce sont les chats 1 à 4, déjà responsables présumés de la naissance de l'épizootie, qui propagèrent apparemment celle-ci dans la clinique C3. Après avoir été soignés à la clinique C1a, ces chats avaient regagné leur refuge. Le 30 juin, alors qu'ils avaient retrouvé une bonne santé, ils furent proposés à l'adoption lors d'une journée spéciale organisée par le refuge. A cette occasion ils ont été mis en contact avec neuf autres chatons eux même proposés à l'adoption. Sept de ces 9 chatons furent plus tard identifiés comme étant infectés. La journée suivante, les chats 1 à 4 présentèrent des difficultés à se déplacer, étaient fébriles, anorexiques et des ulcérations orales ont été notées. Les trois chatons ont été admis et traités à la clinique C3 du 1 au 6 juillet. La mère fut traitée à domicile pour une affection respiratoire haute. Trois autres chatons qui avaient été exposés lors de la journée d'adoption furent soignés à leur tour dans la clinique C3 du 1 au 18 juillet.

Initialement, les vétérinaires ont considéré que ces chatons avaient une infection typique des voies respiratoires. Ils furent isolés dans une pièce de la clinique prévue pour les maladies contagieuses. Un des chatons qui présentait des signes moins typiques fut isolé à son tour dans une autre pièce. Une précaution hygiénique standard a été prise lors de la manipulation de ces chats, incluant une désinfection avec des ammoniums quaternaires. Le 6 juillet un des chatons présenta un sévère œdème facial. Ce même jour les vétérinaires de la clinique C3 apprirent l'existence de l'épizootie qui frappa la clinique C1. Ils suivirent les recommandations de leurs confrères en ce qui concerne les mesures de désinfections spécifiques et les précautions à prendre lors des manipulations.

Une chatte stérilisée de race shorthair de 4 ans, hospitalisée à la clinique au moment de l'arrivée des chatons infectés, fut gardée en observation avec un monitoring de sa température jusqu'au 11 juillet. Aucun signe clinique particulier ne fut noté durant cette période d'observation. La chatte rentra chez son propriétaire le 11 juillet, mais douze jours plus tard, l'autre chat de la famille développa des signes sévères d'une infection à VS-FCV et décéda le 30 juillet malgré les soins qui lui furent donnés.

Bien que des précautions accrues d'hygiène furent prises à partir du 6 juillet, six nouvelles infections de chats étant seulement venus en consultation à la clinique C3 furent notées. Les vétérinaires prirent conscience de la complexité du problème le 18 juillet et décidèrent de ne plus accepter de nouveaux chats en consultation pendant une semaine. Les vétérinaires examinèrent un jeune chat perdu qui avait été recueilli et gardé dans une cage de la salle d'hospitalisation générale depuis le 4 juillet. Bien que ce chat ne soit jamais apparu malade, il présentait de petits ulcères oraux et une légère fièvre. FCV-Kaos fut isolé et confirmé par séquençage génétique chez ce dernier. Tous les chats qui restaient hospitalisés ont survécu et sont retournés au refuge. Plus aucune autre infection ne fut notée ensuite à la clinique C3.

## 2.2. Données épidémiologiques.

En 1998, aux Etats-Unis et plus précisément au nord de la Californie, fut décrite la première épizootie d'une maladie fébrile et hémorragique causée par un FCV. Il s'agit de la première épizootie décrite dans la partie précédente. A cette occasion, 28% des chats infectés sont décédés. La souche de FCV responsable de cette crise était particulièrement contagieuse, le virus se propagea par la voie des sécrétions biologiques en dépit de la mise en place de mesures de désinfection agressives. Le tableau clinique était dominé par un état fébrile avec une anorexie associée à une dermatite faciale ulcérate et des oedèmes cutanés diffus. La souche responsable de cette crise fut isolée et nommée FCV-Ari. La contamination expérimentale de chats SPF (specific pathogen free) avec FCV-Ari permis de recréer la même maladie que sur le terrain [49].

A ce jour, plus d'une demi-douzaine de crises dues à des VS-FCV (virulent strain FCV) ont pu être décrites. On peut citer les crises de Nord Californie, Pennsylvanie, Massachusetts, Sud Californie, Tennessee, Nevada. [26]

Toutes les crises n'ont pas fait l'objet de recherches approfondies concernant l'agent pathogène, mais parmi les VS-FCV les plus étudiés, on peut citer : FCV-Ari (Nord Californie), FCV-Kaos (Sud Californie), FCV-Diva (Massachusetts).

Après comparaison génomique et antigénique, ces souches se sont trouvées bien distinctes les unes des autres. Ceci suggère que les mutations associées avec l'apparition de cette forme clinique sont différentes dans chaque cas ou que ces mutations concernent des parties du génome des FCV qui ne sont pas séquencées par tous les investigateurs.

La fréquence de ces épizooties semble être en augmentation. Néanmoins ce constat peut être la conséquence d'une meilleure reconnaissance de ce type de crise depuis la description de la première d'entre elles en 1998. A partir de ces différents cas et en particulier les trois épizooties décrites précédemment, certaines conclusions ont pu être établies concernant les circonstances d'apparition et d'amplification de ce genre de crise.

Chaque crise partage avec les autres de nombreuses caractéristiques significatives :

- Les épizooties se déroulent généralement dans le contexte hospitalier des cliniques et hôpitaux vétérinaires.
- Dans chaque crise, on peut identifier un cas suspect index (5 crises sur 6). Ce cas index qui apparaît comme la source de l'infection, est souvent un animal hospitalisé ayant pour origine un refuge où de nombreux chats cohabitent.
- Les chats affectés en priorité par l'infection et qui présentent les signes cliniques les plus graves sont des chats adultes jusque là en bonne santé et vaccinés. Les chatons quant à eux, présentaient des signes cliniques amoindris.

- La contamination se déroule très vraisemblablement par le biais de contagions aux chats des employés des cliniques et des clients.
- La propagation n'a jamais dépassé l'échelle de la clinique ou du refuge. Aucun passage dans la population féline à grande échelle n'a été noté.
- Les crises se sont résolues en approximativement deux mois.

Bien que le cas index soit souvent issu d'un refuge, seulement une crise concernait un refuge, celle de Pennsylvanie. Trois crises ne dépassèrent pas l'échelle de la clinique vétérinaire.

Les crises ont eu lieu à toute saison sauf l'hiver, deux au printemps, deux en été, deux en automne. Le fait qu'aucune crise ne se soit déroulée en hiver, au moment où la population de chatons est au plus bas, reflète le possible rôle des affections frustes ou asymptomatiques de ces derniers sur la propagation des VS-FCV.

La transmission des FCV responsables de ces épizooties fut particulièrement élevée. La transmission a été constatée de façon directe et indirecte. La fraction indirecte de cette transmission semble, à la vue des circonstances d'infections, particulièrement importante. La diffusion du virus a pu être décrite selon les modes suivants :

- transmission lors du déplacement de chats infectés (forme clinique ou sub-clinique) entre la maison des propriétaires et la clinique
- transmission lors du séjour dans la clinique par des chats infectés asymptomatiques vers les autres chats hospitalisés.

Même des contacts indirects brefs ont été suffisants pour diffuser l'agent pathogène, ainsi la contention d'un chat pour un examen clinique par une personne portant des vêtements utilisés précédemment lors de la manipulation d'un chat infecté, en dépit du lavage des mains, a suffi pour assurer la contamination.

Une analyse épidémiologique de la crise ayant touché le Sud de la Californie montra que les chats adultes (âgés de un an et plus) étaient significativement plus cliniquement touchés que les chatons (âgés de moins de six mois). En effet les formes cliniques des adultes sont plus sévères et la mort survient plus fréquemment.

Aucun effet sexe ou race n'a été noté.

La maladie s'est déclarée chez des animaux apparemment en bonne santé avec un protocole vaccinal à jour. La vaccination n'est apparue protectrice dans aucune crise avec des VS-FCV.

Les VS-FCV, comme les FCV classiques, peuvent faire l'objet d'un portage chronique, ainsi il a été démontré que des chats infectés par des souches hémorragiques ont excrété des virus pendant au moins 16 semaines après l'infection. Les chats infectés chroniques avec des souches hémorragiques constituent une menace longtemps après la convalescence. En dépit de ces observations aucune contamination à partir des chats ayant survécu aux différentes



épizooties ne fut signalée. Dans tous les cas les chats guéris sont retournés dans leur famille bien qu'un portage chronique devait exister.

Aucune crise n'a persisté plus de 2 à 3 mois et aucun cas sporadique n'a été décrit dans les régions concernées après la résolution des crises.

En fin de compte, la raison de la résolution spontanée de toutes ses épizooties n'a pas été déterminée.

On a pu noter dans ces différentes crises une sensibilité accrue à l'infection. En effet à la vue de l'âge, de l'état de santé, du statut vaccinal des animaux atteints, il paraît peu probable que l'infection se soit dissipée puis éteinte en raison d'un manque d'hôtes sensibles. Si la virulence des virus émis par les chats infectés chroniques est conservée, des cas sporadiques ou même de nouvelles crises devraient apparaître à partir du réservoir potentiel que constituent les chats excréteurs chroniques. Cependant aucun cas de ce type ne fut observé par les vétérinaires de ces régions en dépit de la forte sensibilisation de ces derniers à cette affection. Etant peu probable qu'il y ait eu une erreur de rapport des cas par les vétérinaires, on doit considérer le fait que les mutations qui avaient entraîné l'augmentation de la virulence de ces virus, furent perdues durant le passage par ces chats. De nouvelles souches apparaissent chez les chats infectés permanents en résultat à la pression immunitaire et aux variations génétiques. Ceci a pu être observé après comparaison de divers isolats de FCV-Kaos au cours de la crise du Sud Californie.

La mise en place de mesures sanitaires adaptées et drastiques a dû également jouer son rôle dans la résolution de ces crises.

### **2.3. Les signes cliniques.**

Les chats exposés aux FCV hautement pathogènes dans le contexte de l'hospitalisation ont présenté les premiers signes cliniques d'infection entre 1 à 5 jour. L'apogée clinique de la forme suraiguë fut atteinte en moins de 24 heures. L'incubation fut plus longue (parfois supérieure à 12 jours) pour les chats exposés dans leur environnement familial [26].

Les chats atteints vont fréquemment présenter des signes cliniques classiques d'atteinte des voies respiratoires hautes ; c'est-à-dire comme avec une calicivirose féline classique. On notera ainsi une anorexie, des ulcérations orales, du jetage nasal et oculaire. Ces signes seront néanmoins plus sévères que dans les formes classiques. La fièvre est présente dans la plupart des cas et peut être très élevée dépassant souvent les 40.6°C. Le tableau 3 montre la répartition des différents signes cliniques lors de l'épizootie du Sud de la Californie.

Parmi les signes cliniques les plus spécifiques aux FCV hautement pathogènes, on notera des lésions dermatologiques :

- l'œdème cutané
- l'alopecie
- les croûtes
- les ulcérations

Des pustules ont été remarquées dans certains cas. L'œdème cutané est décrit principalement sur la tête et les membres. Les croûtes et les ulcérations concernent plus précisément la truffe, les babines, les pavillons auriculaires, la région périoculaire, l'extrémité distale des membres. Les anglosaxons utilisent le terme de « Roman noze », littéralement « nez Romain », pour décrire l'aspect morphologique des chats dans les stades précoces du développement de l'œdème facial.

Une détresse respiratoire sévère se développe chez certains chats suite à l'apparition d'un œdème pulmonaire ou une effusion pleurale.

Un ictère est fréquemment présent dans le cortège clinique. Le pronostic sera bien sur extrêmement réservé pour les chats présentant un ictère et/ou une dyspnée sévère.

En phase aiguë, les chats peuvent mourir subitement d'arrêt cardiovasculaire sans la présence préalable de signes cliniques particuliers hormis la fièvre.

Des vomissements et de la diarrhée vont parfois témoigner de l'atteinte gastro-intestinale mais aussi hépatique et pancréatique. Des signes de coagulopathie peuvent apparaître plus tard dans l'évolution de la maladie ; ainsi on peut observer des pétéchies, des ecchymoses et plus rarement de l'épistaxis et de l'hématochezie. Ces troubles de la coagulation pouvant s'expliquer par l'existence d'une CIVD (coagulation intravasculaire disséminée).

Dans la première épizootie décrite, en 1998, deux chats avaient développé des signes de CIVD (coagulation intravasculaire disséminée) et cette CIVD avait été confirmée histologiquement. En raison de ce constat et de la forte similarité avec le RHDV, FCV-Ari et les autres FCV à l'origine de ces épizooties avait été appelés : FCV hémorragiques. Cependant le caractère hémorragique des épizooties n'a par la suite été reporté que de rares fois. De plus il se pourrait que les chats ayant présenté une CIVD aient eu une infection concomitante à *Aspergillus*. De plus, aucun des nombreux chats de l'épizootie du Sud Californie (FCV-Kaos) n'a présenté des signes de CIVD. C'est pourquoi on parle maintenant de VS-FCV (Virulent Strain FCV) et non de « hémorragic FCV ».

**Tableau 3 :** Signes cliniques reportés chez les chats infectés naturellement par FCV-Kaos dans l'épizootie du Sud de la Californie en été 2002. (d'après Hurley *et al.* [26])

Signes cliniques	Nombre de cas (pourcentage du total)	Nombre de cas fatals (pourcentage du total)
Fièvre	44 (81%)	21 (95%)
Œdème facial ou des extrémités	28 (52%)	16 (73%)
Ulcères oraux	25 (46%)	7 (32%)
Jetage nasal	16 (30%)	6 (27%)
Dyspnée	9 (17%)	7 (32%)
Ulcération / Alopécie	9 (17%)	4 (18%)
Ictère	6 (11%)	6 (27%)
Conjonctivite / Chassie	6 (11%)	4 (18%)
Diarrhée	4 (7%)	3 (14%)
Vomissements	4 (7%)	2 (9%)
Boiteries	3 (6%)	0
TOTAL	54 chats	22 chats

Alors que les paramètres biochimiques et cellulaires sanguins étaient plutôt peu modifiés et de façon non spécifique dans les caliciviroses félines classiques, ils sont fortement modifiés dans les infections par des VS-FCV et témoignent de l'affection de nombreux organes. Les biochimies réalisées sur certains chats atteints ont pu montrer une hyperbilirubinémie variant de modérée à sévère, une hypoalbuminémie, une hypoprotéinémie totale, une hyperglycémie, une élévation de la créatinephosphokinase (CPK) et des ASAT (aspartate aminotransférase) et une légère augmentation des ALAT (alanine aminotransférase).

Les analyses hématologiques n'ont pas apporté de résultats probants. Une légère lymphopénie est relativement commune. Certains chats vont présenter une neutrophilie modérée et une thrombocytopénie. L'hématocrite est généralement normal mais peut parfois être sévèrement diminué. De sévères anémies ont été observées chez les animaux souffrant de coagulopathie, ce qui a été le cas avec FCV-Diva et FCV-Ari.

La létalité de cette forme systémique hémorragique est d'approximativement 50% et peut être même supérieure chez les adultes. Les infections subcliniques et les formes bénignes qui sont cliniquement indissociables d'une calicivirose classique, représentent, après confirmation par isolement et séquençage génique des virus responsables, 20% des chats frappés par la crise du Sud de la Californie. Bien que plus fréquentes chez les chatons les formes bénignes ont également été observées chez des adultes. Les infections subcliniques peuvent jouer un rôle important dans la diffusion de la maladie. En effet des chats asymptomatiques ont pu transmettre des virus qui ont causé la forme hautement pathogène [26].

Les résultats obtenus à la suite des analyses histologiques sont variables. Macroscopiquement on retrouve un œdème cutané et de multiples ulcérations en particulier de la cavité buccale. La lésion la plus rencontrée, mais n'étant pas systématiquement présente est la nécrose hépatocellulaire. Une pneumonie interstitielle aigue a fréquemment été décrite. De plus divers liquides d'épanchements étaient présents et tout particulièrement pleuraux et abdominaux. Un seul cas d'épanchement péricardique fut décrit.

Les chats présentaient également des lésions des cryptes et villosités intestinales. De nombreux cas de pancréatites ont été reportés avec l'infection avec FCV-Ari, un seul cas avec FCV-Kaos.

Des ulcères gastro-intestinaux ont aussi pu être observés.

On ne peut pas, à la vue des premiers résultats anatomopathologiques, conclure à une cause de mort précise suite à une telle infection.

#### **2.4. Données anatomopathologiques, immunohistochimiques et électromicroscopiques obtenues par l'étude approfondie de chats infectés naturellement par des VS-FCV.**

Hurley *et al.* ont étudié avec précision sept chats issus de deux épidémies de VS-FCV. L'infection a pour chacun été confirmée par isolement viral. Les chats de cette étude sont issus de deux des épidémies détaillées précédemment : Nord Californie (1998) et Sud Californie (2002) [50].

##### **2.4.1. Aspect macroscopique.**

Les ulcères constituent la lésion macroscopique la plus fréquente et est présente chez tous les chats étudiés. Par contre, leur nombre, leur étendue et leur localisation peuvent sensiblement varier. Dans la cavité buccale, le dos de la langue est la zone la plus sévèrement et fréquemment atteinte et on observe souvent de petits ulcères sur le palais dur et la gencive. L'extrémité des membres présente souvent des hyperhémies circonférentielles naissant à la fin du pelage et s'étendant sur les coussinets. Les ulcères sont assez fréquemment présents dans la cavité nasale, sur le pavillon auriculaire et se retrouvent aussi à d'autres localisations cutanées. Deux chats ont présenté des plages d'alopecie.

Tous les chats ont présenté de l'œdème sous-cutané sur la face et les membres. La présence d'une conjonctivite avec émission de chassie dans le canthus médial a également été décrite chez tous les chats.

#### 2.4.2. Histologie.

La modification histopathologique la plus représentative est la nécrose et l'ulcération épithéliale. Les lésions initiales ont consisté à une nécrose de la strate basale et de la strate épineuse de l'épithélium pluristratifié cutané. L'épithélium folliculaire est apparu également nécrotique. De multiples ulcères microscopiques ont pu être observés dans des régions ne présentant aucun signe macroscopique d'ulcération.

Quatre chats présentaient des lésions de pneumonie broncho-interstitielle. Chez les plus sévèrement affectés, une hyperplasie des pneumocytes de type II, une accumulation de leucocytes dans les capillaires alvéolaires et des microthrombi ont été observés. Les alvéoles se sont révélés être remplis de façon variable avec une mixture mousseuse contenant des histiocytes, des débris cellulaires, de la fibrine, et des hématies. Dans les cas les plus aigus, les lésions pulmonaires étaient limitées à une accumulation de leucocytes dans les capillaires alvéolaires, à un œdème alvéolaire dans certaines régions, et de façon dispersée à la présence de cellules épithéliales nécrosées dans la lumière alvéolaire.

Les modifications hépatiques varient de la légère dissociation du parenchyme hépatique avec une individualisation diffuse des hépatocytes, jusqu'à la dissociation extensive avec des cellules complètement individualisées. Dans un cas il est noté une nécrose hépatique centrolobulaire. Une accumulation de fibrine a pu être observée dans les capillaires sinusoides. L'inflammation reste localisée autour des foyers de nécrose.

Quatre chats ont présenté une nécrose multifocale suraiguë du pancréas avec saponification de la graisse adjacente.

Chaque chat présente également une nécrose extensive de la rate et des nœuds lymphatiques.

#### 2.4.3. Immunohistochimie.

Des antigènes viraux ont été détectés dans la majorité des régions présentant des lésions, c'est-à-dire : la peau, la muqueuse nasale, la langue, la muqueuse buccale, le pavillon auriculaire, les coussinets, le poumon et le pancréas. L'intensité de la coloration était proportionnelle à l'intensité de la lésion. Les cellules endothéliales des petits vaisseaux du derme contiennent des antigènes viraux. Les antigènes sont également présents dans les cellules pancréatiques exocrines nécrosées et à leur pourtour. Dans le poumon des antigènes ont été repérés dans des cellules isolées à l'intérieur des septa alvéolaires indépendamment de la présence de lésions macroscopiques. Aucun antigène n'a été détecté dans le foie, la rate, ni dans les nœuds lymphatiques.

#### 2.4.4. Microscopie électronique.

Des particules virales d'approximativement 33.5 nm de diamètre, avec une bordure dentelée et une surface avec des encoches qui sont typiques de la famille des *Caliciviridae*, furent identifiées à partir des isolements viraux réalisés. Plusieurs tissus épithéliaux lésés (coussinet, cavité nasale, langue) furent observés en microscopie électronique à transmission. Les VS-FCV furent identifiés dans ces lésions par leur taille cohérente (32-35 nm) avec un core central dense aux électrons de 20 nm et

une périphérie moins dense aux électrons. Dans les lésions des coussinets, les virus, parfois dans des formations paracrystallines, ont été détectés dans la partie superficielle de l'épithélium et associés avec des cellules qui subissaient une lyse ou une dégénérescence vacuolaire. Dans les deux cas, les virions matures étaient présents dans le noyau des cellules épithéliales. Les observations des lésions hépatiques ont montré une désorganisation extensive de l'architecture hépatique. De nombreux hépatocytes étaient nécrotiques avec des mitochondries volumineuses, un noyau fragmenté et une membrane plasmique rompue.

## 2.5. Pathogénie.

Tous les mécanismes expliquant le tableau lésionnel et la gravité des infections par les VS-FCV ne sont pas connus mais différentes hypothèses pathogéniques sont énoncées [16].

Les lésions semblent en partie liées à des réactions à médiation immune. Le fait que les chats âgés soient plus sévèrement atteints est en faveur de cette hypothèse. On trouve de plus le même constat dans la maladie hémorragique du lapin (RHD) où les lapereaux présentent une forme clinique autolimitante alors que la mortalité chez les adultes est de 100%.

Une étude de 2005 menée par Foley *et al.* a consisté à rechercher la contribution du système immunitaire dans la pathogénie des VS-FCV et dans cette optique ils ont évalué la quantité et la nature des cytokines présentes dans les tissus lésés lors d'une infection par un VS-FCV. Les trois principales cytokines identifiées sont : MIP-1 $\alpha$ , IL-10 et TNF- $\alpha$ . MIP-1 $\alpha$  est sécrétée par un grand nombre de types cellulaires, elle a un effet chimiotactique envers les macrophages et monocytes, elle est pyrogène et potentialise la production de IFN- $\gamma$ . IL-10 est sécrétée par les lymphocytes TH2 et les macrophages ; cette cytokine a un effet de rétrocontrôle et inhibe l'émission d'autres cytokines par le macrophage. Dans la peau, IL-10 stimule les mastocytes et les Lymphocytes B producteurs d'IgA et favorise l'expression du CMH de type II. TNF- $\alpha$ , une cytokine de la réponse de type TH1, produite entre autres par les macrophages et lymphocytes, est susceptible de jouer, au vu de ses fonctions, un rôle important dans la pathogénie des VS-FCV. Cette cytokine a la faculté de faire augmenter la perméabilité vasculaire, de stimuler une réponse hépatique aigüe, d'induire une activation du complément et de générer de la fièvre et un choc. Bien qu'on ne puisse pas au vu de ces constats relier directement les lésions histopathologiques observées aux taux élevés de cytokine, ces résultats suggèrent cependant une contribution immunopathogénique à la suite de l'invasion virale des endothéliums et épithéliums. Dans les cas sévères et généralisés, ceci peut, de façon ultime, conduire à une atteinte vasculaire systémique, à la formation de microthrombi, à une CIVD puis à la mort.

## 2.6. Les raisons de l'émergence des VS-FCV.

Les raisons exactes de l'apparition des épizooties à VS-FCV ne sont pas encore complètement établies. De nombreuses zones d'ombres persistent, mais plusieurs hypothèses sont énoncées [16,25,50].

Une des hypothèses proposée est l'émergence d'un nouveau génotype de FCV associé à ces épizooties. Si ce génotype est à l'origine du phénotype de haute virulence, alors on devrait retrouver des modifications génétiques communes et cohérentes entre les différentes souches de VS-FCV jusqu'alors identifiées. Ce qui n'a pour l'instant pas été concluant.

Comme les autres membres de la famille des *Caliciviridae*, les FCV sont sujets à un fort taux de mutations et un minimum de réparation, un mécanisme qui a été impliqué dans l'émergence précédente du RHDV.

Le séquençage du gène codant pour la protéine de capsid puis le séquençage du génome entier des différents VS-FCV, ont montré que les VS-FCV ne formaient pas un seul et même clade parmi les FCV. En effet, ces études ont montré que chacun de ces VS-FCV était issu plutôt de souches de terrains locales.

Une seconde hypothèse consiste à penser que les différents virus à l'origine de ces épizooties partagent des déterminants pathogéniques en commun quand ils interagissent avec les cellules félines. Ceci est d'autant plus crédible que la majeure partie de la pathogénie de cette maladie impliquerait des réactions à médiation immune. L'interaction initiale entre le virus et l'hôte pourrait initier une conséquence immune commune même si le génotype viral est différent.

Sachant que les calicivirus ne présentent qu'une seule protéine de capsid et que cette dernière est impliquée dans l'attachement de l'ARN viral et dans l'adhésion à la cellule hôte, il semble naturel qu'une modification de cette protéine doive jouer un rôle dans la pathogénie particulière des VS-FCV. Plusieurs mutations ont pu être détectées dans la séquence génique du gène de capsid des différents VS-FCV et en particulier dans une région précise (entre les nucléotides 398 et 592). Cette région, d'après les acides aminés correspondants, constituerait un site de glycosylation. A partir de ces éléments, certains auteurs suggèrent qu'un nouveau récepteur, ou tout autre type d'interaction entre le virus et l'hôte, pourraient être le résultat d'une mutation dans la structure de la protéine de capsid. Ces nouvelles interactions pourraient d'après les résultats lésionnels avoir pour cible préférentiellement les cellules épithéliales et endothéliales.

A l'heure actuelle de nombreuses études sont menées dans le cadre des interactions entre les VS-FCV et les cellules hôtes. Ces études [16] intéressent en particulier les interactions avec les cellules endothéliales des vaisseaux cutanés et les cellules immunitaires locales et tout particulièrement les cellules dendritiques productrices de TNF- $\alpha$ .

## **2.7. Démarche thérapeutique.**

Le traitement mis en place lors de la suspicion d'une calicivirose fébrile et hémorragique reprend les bases de la forme classique [26].

Les chats sont dans un premier temps isolés de tout autre chat et les mesures d'hygiène sont accrues lors de la manipulation de ces derniers.

Le traitement va consister initialement à la mise en place d'une antibiothérapie large spectre associée à une fluidothérapie.

Une humidification des voies respiratoires et une oxygénothérapie est nécessaire pour les cas de dyspnée sévère.

Un soutien nutritionnel avec mise en place de sondes de gastrotomie et d'oesophagostomie sont nécessaires pour les cas plus graves.

On va ajouter à ceci un traitement agressif avec des perfusions de colloïdaux pour faire face à l'hypoalbuminémie et la déshydratation.

Bien sûr dans le cadre de chaque crise différents traitements ont été utilisés et essayés : divers antibiotiques large spectre, des interférons alpha.

Les glucocorticoïdes ont été utilisés à dose immunosuppressive (1 mg/kg/12h) sans augmentation de la mortalité mais sans preuve d'effets bénéfiques.

Par exemple, dans la crise du sud de la Californie, cinq chats sévèrement atteints furent traités avec de la dexaméthasone en plus des traitements décrits précédemment et survécurent. Un chat traité avec de la prednisolone est mort mais les autres chats qui décédèrent n'avaient reçu aucun glucocorticoïde.

## **2.8. Recommandations en cas de crise.**

Les crises à FCV hautement pathogènes décrites aux Etats-Unis ont démontré l'importance des mesures sanitaires de contrôle afin de limiter la propagation des virus. En effet la forte létalité, la faible efficacité de la vaccination traditionnelle, et l'absence de traitements spécifiques rendent les mesures sanitaires essentielles dans la résolution de la crise [26].

Bien que ces crises soient désastreuses et fortement dévastatrices pour les cliniques et refuges concernés, la maladie reste extrêmement rare.

Une reconnaissance rapide de la maladie et la mise en place de mesures de contrôle efficaces incluant une désinfection adaptée, une quarantaine, des procédures de dépistage, réduira l'impact de cette maladie dans le futur.

Le fait que la forme fébrile et hémorragique puisse être transmise par des chats présentant des symptômes bénins, (c'est particulièrement vrai pour les chatons), impose aux vétérinaires d'être extrêmement vigilants et respectueux des règles sanitaires habituelles concernant les maladies infectieuses lorsqu'ils sont face à un cas de chat souffrant d'une affection des voies respiratoires supérieures.



Concernant les mesures de désinfections, il y a certaines précautions à prendre afin que celles-ci soient vraiment efficaces. Les calicivirus sont inactivés par l'hypochlorite de sodium (Eau de Javel) quand celle-ci est utilisée correctement ; c'est-à-dire en l'absence de matière organique, à la concentration adéquate et avec un temps de contact suffisant. Par contre les autres molécules utilisées communément comme désinfectant dans les cliniques vétérinaires, c'est-à-dire la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires ne fonctionnent pas. De nombreuses cliniques avaient malheureusement utilisé des ammoniums quaternaires pour assurer les désinfections lors des crises en Californie du Sud.

La décontamination de routine suite à une exposition à un chat souffrant d'une affection des voies respiratoires hautes nécessite un nettoyage préalable avec un détergent suivi d'une désinfection avec de l'hypochlorite de sodium à 5% dilué dans de l'eau à un titre final d'au moins 1/32<sup>ième</sup>. En l'absence de désinfection efficace, les FCV peuvent persister de façon isolée à une température ambiante de 20°C plus de 28 jours. Le RHDV peut quant à lui persister dans ces mêmes conditions 105 jours. Les mises en quarantaine avec isolement initial des suspects sont indispensables et indissociables des mesures de décontamination.

Lors du diagnostic ou de forte suspicion de VS-FCV, les mesures de contrôle suivantes sont recommandées :

1/ Isolement strict de tout cas suspect.

Il faut limiter le nombre de personnes parmi le personnel médical qui peut manipuler l'animal suspect. De plus les personnes concernées doivent porter rigoureusement des vêtements protecteurs : blouses à usage unique, protection pour les chaussures, calots... Les mains doivent être soigneusement lavées après toute manipulation même en cas d'usage de gants.

Les soins et examens doivent être réalisés le plus possible dans la zone d'isolement. Si les locaux ne permettent pas un isolement strict, les animaux suspects doivent se trouver au minimum à 1.2 mètre de chats sains. Les chats suspects doivent dans la mesure où leur état le permet être traité à leur domicile. Bien sûr il faut que la médicalisation mise en œuvre soit compatible et qu'il n'y ait pas d'autres chats dans l'environnement familial.

2/ Isolement strict de tous les chats exposés pendant au moins deux semaines après l'exposition. Ces chats doivent également être loin des chats isolés symptomatiques. Les chats non exposés mais étant hospitalisés dans la clinique doivent faire l'objet d'une surveillance accrue avec la recherche de signes éventuels d'infection : fièvre, ulcérations, anorexie...

3/ Les chats exposés et les chats infectés doivent faire l'objet d'un écouvillonnage oropharyngien avec mise en culture virale. Idéalement, ils ne peuvent être relâchés dans l'environnement avec des chats naïfs qu'après deux cultures virales négatives espacées d'une semaine.

Cependant des chats entièrement guéris cliniquement mais qui présentaient toujours des mises en culture virales positives ont été autorisés à rejoindre leur famille. Bien que ces chats aient pu à cette occasion côtoyer des chats naïfs, aucune contamination n'a été déclarée. A l'heure actuelle on ne sait pas si de tels chats constituent un risque réel pour les autres chats.

4/ Les locaux doivent faire l'objet d'un nettoyage soigné et d'une désinfection avec de l'eau de Javel à 5% diluée préalablement à 1/32<sup>ième</sup> dans de l'eau. Tous les lieux où les animaux ont accès doivent être désinfectés et en particulier la salle d'attente. Les surfaces à nettoyer doivent être frottées et décapées de telle sorte que toute incrustation possible de matière organique soit éliminée. La désinfection fait suite à cette étape essentielle de nettoyage. Un soin soigneux doit être porté aux objets de la vie courante de la clinique qui sont touchés de nombreuses fois durant la journée d'activité : téléphones, claviers, poignées de portes...  
Les instruments chirurgicaux et de soins font bien sûr l'objet d'une stérilisation thermique.

5/ Pour les lieux dont la décontamination n'est pas possible ou non optimale, par exemple en raison de la présence de moquettes, tapis, tapisseries, tel que dans des maisons ou appartements contaminés, il faut interdire l'accès des chats à ces lieux pendant au moins quatre semaines.

6/ Le personnel de la clinique doit se laver les mains, changer ses vêtements et ses chaussures en quittant le lieux de travail. C'est d'autant plus important si la personne rejoint une autre clinique, un refuge ou qu'elle possède elle-même des chats à son domicile.

7/ Les propriétaires de chats ayant séjournés à la clinique depuis le début de la crise doivent être informés. Les chats concernés doivent faire l'objet d'une surveillance précise avec recherche de signes cliniques évocateurs : léthargie, anorexie, fièvre, ulcération orale, troubles respiratoires, oedèmes cutanés...

8/ Il faut prévenir et informer les cliniques vétérinaires, refuges, chatteries des environs.

9/ Bien qu'il n'y ait pas de preuves en faveur du fait que les FCV hautement pathogènes constituent une menace zoonotique, les autorités de santé publique doivent être informées.

10/ Dans les cliniques où la maladie continue à se répandre en dépit de la mise en place de mesures de précaution, l'admission des chats doit être suspendue pendant une à deux semaines. Cette mesure fut nécessaire dans deux cliniques du sud de la Californie.

11/ Bien que la vaccination classique contre les FCV ne soit pas apparue comme protectrice dans les crises qui ont sévi jusqu'alors, on ne peut pas exclure que les souches futures de VS-FCV soient non résistantes à la vaccination.

## **PARTIE 3 : CONSEQUENCES DE LA VARIABILITE DES FCV SUR LA VACCINATION.**

La vaccination a toujours été considérée comme l'élément clé de la lutte contre les caliciviroses félines. En effet en raison de l'existence d'un état de portage au long cours après une guérison, de la résistance des FCV à de nombreux désinfectants classiques, de leur forte contagiosité en particulier lors de regroupement de chats tels que dans les refuges, chatteries, cliniques vétérinaires, la mise en place d'une vaccination efficace demeure essentielle dans cette lutte.

### **1. L'immunisation contre les FCV.**

#### **1.1. Les premières observations.**

Dès 1968, des observations laissent suggérer la mise en place d'une immunisation contre les FCV. Plusieurs auteurs montrent que des chats infectés par leur soin par une souche de FCV donnée, une fois guéris, restent asymptomatiques lors d'une réexposition future à cette même souche virale. Néanmoins aucune immunité protectrice contre d'autres souches virales n'est constatée lors de ces études.

D'autre part il est déjà établi à cette époque qu'il existe un grand nombre de souches de FCV et que ces dernières présentent des formes cliniques très variées. Des réserves sont donc portées sur la possible immunisation des chats contre l'entité clinique que constitue les « caliciviroses félines » [29].

#### **1.2. La souche F9 laisse suggérer une application vaccinale.**

En 1975, Kahn *et al.* ont montré que l'immunisation contre une souche particulière de FCV, la souche F9, permettait d'obtenir une protection immunitaire hétérologue très intéressante [29,53].

Lors de cette étude expérimentale, des chats SPF (specific pathogen free) ont été exposés à un aérosol contenant des FCV de faible virulence correspondant à la souche F9. Des prélèvements sanguins ont été réalisés durant les jours suivant l'exposition aux virus et des tests de séroneutralisation ont été réalisés à partir du sérum obtenu. Dans un premier temps les tests de séroneutralisation ont été menés contre des FCV-F9, ce qui a confirmé la forte activité homologue, et ensuite contre une souche bien plus pathogène, le FCV-255, et à cette occasion une forte activité hétérologue a pu être observée.

Kahn *et al.* [29] ont poursuivi leurs expériences *in vivo* et ont soumis les chats préalablement immunisés contre le FCV-F9 à la souche virale FCV-255. L'exposition à cette souche virale connue pour être particulièrement pathogène s'est déroulée comme préalablement, par voie oronasale à partir d'un aérosol et a eu lieu 35 jours après l'unique contact avec FCV-F9. Des chats témoins non immunisés préalablement contre FCV-F9 ont été contaminés en même temps contre FCV-255. Les chats préalablement immunisés ont présenté soit aucun signe clinique soit des signes frustes : léger blépharospasme, petites ulcérations nasales ; les chats témoins en revanche ont présenté un cortège clinique typique d'une infection au FCV-255 c'est-à-dire : état fébrile, dépression, dyspnée et ulcération de la langue et du palais.

De tels résultats laissaient suggérer qu'il était possible d'immuniser des chats contre des FCV à fort pouvoir pathogène avec des souches de FCV peu pathogènes grâce à l'existence de réactions croisées. Les bases de la recherche vaccinale contre les FCV ont ainsi été lancées.

### **1.3. Mise en place d'une vaccination par voie parentérale.**

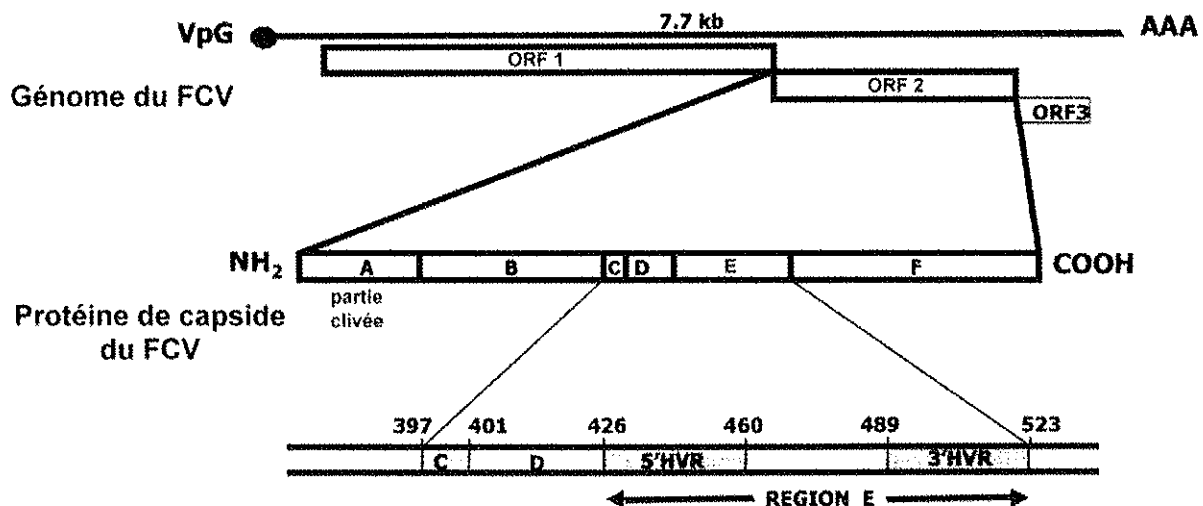
Les premiers essais de vaccinations ont été menés par voie oronasale avec la souche FCV-F9. Cependant la souche sauvage F9, bien que peu pathogène par rapport à d'autres FCV, reste encore trop virulente pour pouvoir être utilisée directement comme souche vaccinale. Cette souche fut initialement isolée en 1958 du pharynx d'un chat souffrant d'une affection des voies respiratoires hautes [2]. De nombreux auteurs présentent une méthode d'atténuation de la souche F9 afin qu'elle soit utilisable comme souche vaccinale. En général, à la fin des années 1970 l'atténuation consiste en un passage répété en culture cellulaire avec des milieux pouvant varier dans leur nature (cellules rénales, linguales, embryonnaires de chat) et leur composition physicochimique, par exemple en réalisant des passages à faible température (30-32°C). Ainsi en 1976 Kahn *et al.* ont obtenu une souche F9 qui ne générerait que de légers signes cliniques par exposition oronasale: petites ulcérations de la muqueuse palatine et nasale [30].

Des essais de vaccination à partir de cette souche par voie intramusculaire ont été menés et se sont révélés concluants. Cette voie d'administration, contrairement à la voie oronasale, n'a pas généré de signes cliniques chez les animaux vaccinés, et aucune excrétion oropharyngienne du virus n'a été détectée. La voie intramusculaire nécessite néanmoins deux injections à 27 – 30 jours d'intervalles pour donner des taux d'anticorps équivalents à ceux obtenus par voie oronasale. La réponse immunitaire par voie intramusculaire est donc plus lente à se mettre en place. Les animaux vaccinés ont été exposés à la souche virale FCV-255 et n'ont présenté que de légers signes cliniques alors que les témoins sont tous décédés. Durant cette étude, plusieurs doses vaccinales furent testées ; le taux d'anticorps et plus particulièrement la persistance de ces derniers sont directement liés à la dose vaccinale utilisée. Ainsi il a été conclu que la meilleure réponse humorale était obtenue avec deux injections vaccinales espacées de 30 jours avec une dose virale d'au moins :  $4.1 \log_{10} \text{TCI}_{50}$  [3].

#### 1.4. Les bases de l'immunogénicité.

La structure du virion des calicivirus, du fait de la présence d'une seule protéine structurale majeure, laisse envisager le rôle majeur joué par cette protéine de capsidie que ce soit dans la pathogénie ou l'immunogénicité des particules virales. La protéine de capsidie est codée par l'ORF2. La comparaison de la séquence de cette ORF entre différents isolats de FCV a permis, sur la base des zones conservées, de diviser cette ORF en six régions nommées respectivement A, B, C, D, E et F. La région A se trouve à l'extrémité NH<sub>2</sub> terminale du précurseur de la protéine de capsidie. Le clivage de cette région fournit la protéine de capsidie mature. Les régions B, D et F sont relativement bien conservés parmi les FCV, par contre les régions C et E présentent une variabilité importante entre les isolats. La région E est de plus divisée en deux régions hypervariables (HVR : hypervariable region) qui sont séparées par une séquence centrale bien conservée [19,57,76]. (Fig.9)

**Figure 9 :** Bilan de la structure d'un FCV, du génome à la protéine de capsidie. (d'après Radford *et al.* [57])



Plusieurs auteurs [19] ont cherché à identifier les épitopes de la protéine de capsidie. De nombreuses méthodes ont été employées. Des anticorps neutralisants ont été cartographiés sur la protéine de capsidie en les faisant réagir avec différentes protéines de fusions exprimant des régions variées de la protéine de capsidie. Des

virus mutants ont été sélectionnés avec des anticorps monoclonaux neutralisants. Dans le but de cartographier les épitopes de lymphocytes B sur la protéine de capsid, une bibliothèque de polypeptides issus de fragments de 100 à 200 bases de l'ORF2 a été testée avec un antisérum polyclonal anti-FCV [57].

Toutes ces études ont conduit au même résultat : la région hypervariable 5' de la partie E de la protéine de capsid joue un rôle majeur dans l'immunogénicité du virus. Cette zone contient la majeure partie des épitopes neutralisants.

## **2. Bilan de trente années de vaccination.**

### **2.1. Les vaccins utilisés.**

La vaccination contre les FCV a débuté à grande échelle à la fin des années 1970. Les premiers vaccins utilisés étaient des vaccins vivants atténués issus de la souche F9 isolée aux Etats-Unis en 1958 par Bittle *et al.* ou issus de souches plus ou moins dérivées de la souche F9 après de nombreux passages *in vitro* et *in vivo*, appelées communément « F9-like » [2, 3].

Ensuite sont apparus des vaccins basés sur des virus inactivés. La plupart de ces vaccins fut élaborée à partir des souches 255 et 2280. FCV-255 fut isolée aux Etats-Unis par Kahn et Gillepsie en 1970 chez un chat souffrant de pneumonie. La souche FCV-2280 fut quant à elle isolée en 1983 par Pedersen *et al.* chez un chat souffrant de boiteries [28,47].

En ce qui concerne les vaccins avec des virus inactivés, l'inactivation est habituellement réalisée par traitement chimique. Les principaux agents chimiques utilisés sont : la formaline, le formaldéhyde, la  $\beta$ -propiolactone, l'éthylèneimine en présence ou non de traitement thermique. Dès 1978, Povey *et al.* présentent et décrivent une préparation vaccinale à base de FCV inactivés à la formaline et adjuvée, utilisable chez les chats.

Les vaccins inactivés sont généralement adjuvés afin d'augmenter la réponse immunitaire de l'hôte et induire ainsi une meilleure protection contre les souches hétérologues émergeant dans la population féline. Pour adjuver les préparations immunogènes, on peut utiliser à titre d'adjuvant : l'hydroxyde d'alumine, un polymère de l'acide acrylique ou méthacrylique, un polymère d'anhydride maléique et de dérivé alcényle. Il est également possible de formuler le vaccin sous la forme d'une émulsion huile-eau. L'émulsion huile-dans-l'eau peut notamment être à base d'huile de paraffine liquide légère (type pharmacopée européenne) ; d'huile isoprénolide telle que le squalane ; d'huile résultant de l'oligomérisation d'alcènes ; des esters d'acides ou d'alcool à groupement alkyle linéaire, plus particulièrement les huiles végétales ; des esters d'acides ou d'alcools gras ramifiés. L'huile est utilisée en association avec des émulsifiants pour former l'émulsion. Les émulsifiants sont de préférence des tensioactifs non ioniques. Les vaccins adjuvés ne sont pas exempts de défauts, il induisent un taux bien plus important de réactions locales défavorables et

augmenteraient par conséquent le risque d'apparition d'un fibrosarcome vaccino-induit au niveau du site d'injection.

En raison entre autre de la dérive génétique au cours du temps, les anticorps générés contre les souches vaccinales dans les années 1970, telles que F9, 255 ou 2280, neutralisent seulement quelques souches de terrains isolées dans les années 1990. Par exemple, Lauritzen *et al.* ont montré que les sérums anti-F9 neutralisent 43% des FCV isolés au Etats-Unis durant la période 1990 - 1996, alors qu'ils neutralisaient 56% de ceux isolés entre 1980 et 1989, tout en sachant qu'ils neutralisaient 86% des souches de la période 1958 - 1979. La même étude menée au Royaume-Uni montre que les sérums anti-F9 neutralisent seulement 10% des souches de terrains britanniques de la période 1990 - 1996 [38].

## **2.2. Le maintien d'infections aiguës et chroniques sur le terrain.**

Le portage asymptomatique est considéré par de nombreux auteurs comme étant de 15 à 20% dans la population des chats domestiques. La vaccination, bien que fortement utilisée, n'a pas eu d'impact positif sur ce nombre. La séroprévalence anti-FCV est quant à elle estimée à plus de 70%. De plus le nombre d'affections aiguës associées à des FCV reste élevé et la proportion d'excréteurs oraux chroniques n'a pas changée [8].

Le rôle des vaccins dans l'établissement d'une infection persistante a fait l'objet de plusieurs études. Dans l'étude de Harbour *et al.*, 43% des animaux excréteur le FCV et présentant des signes cliniques (affection du tractus respiratoire supérieur, gingivo-stomatite chronique et autres signes cliniques), ou étant porteurs asymptomatiques étaient correctement vaccinés ; en revanche 17% des animaux excréteurs ne l'étaient pas. Parmi les chats atteints de gingivo-stomatite chronique, 31.5% étaient correctement vaccinés [21].

L'existence, encore de nos jours, de nombreuses infections symptomatiques est principalement due, d'après de nombreux auteurs, au fait que la vaccination n'empêche pas l'infection, le portage et l'excrétion du virus. La vaccination permet de diminuer ou dans les meilleurs cas d'empêcher l'expression clinique de la maladie mais ne permet pas l'infection persistante [48].

L'infection persistante se caractérise par un portage et une excrétion du virus au niveau de l'oropharynx. Ce portage ne s'accompagne pas nécessairement de signes cliniques chroniques, il peut être entièrement asymptomatique. Le site d'excrétion lors d'une infection persistante est l'épithélium de la région des tonsilles palatines. Dans cette zone, la réplication du virus se limite aux couches les plus superficielles de l'épithélium sans provoquer de lésions histologiques. La restriction de la réplication virale aux couches superficielles de l'épithélium tonsillaire, sans

destruction tissulaire, pourrait mettre le virus à l'abri des réponses inflammatoires et tissulaires de l'hôte, et ainsi d'expliquer la persistance de l'infection [13,77].

### 2.3. Les échecs vaccinaux.

Radford et Bennet ont particulièrement étudiés entre les années 1990 et 2000 les raisons des échecs vaccinaux contre les FCV. Durant les années 1990, la vaccination des chats contre les FCV est très répandue dans les pays occidentaux et en particulier au Royaume-Uni où ils ont conduit leurs études. La plupart des vaccins disponibles à cette époque sont des vaccins vivants atténués dérivés de la souche F9 et sont injectés par voie sous-cutanée. Le protocole vaccinal consiste à deux injections vaccinales de primovaccination suivies d'un rappel au bout d'un an et ensuite un rappel tous les deux ans le reste de la vie de l'animal. Bien que la vaccination soit généralement effective et parvienne à prévenir la maladie, certains chats vont présenter des signes cliniques caractéristiques d'une infection par un FCV juste après la vaccination [11,54,57].

Les affections apparaissant suite à une vaccination (échec vaccinal) ont été regroupées en deux catégories : les réactions vaccinales, survenant dans les 21 jours suivant la vaccination et les rechutes vaccinales, survenant au-delà de 21 jours suivant la vaccination. Les signes cliniques qui accompagnent ces réactions ou rechutes vaccinales sont généralement des affections orales ou respiratoires aiguës, et dans certains cas des boiteries. Dawson *et al.* ont isolé des FCV chez 69% des chats ayant présenté une réaction vaccinale et chez 90% des animaux ayant présenté une rechute vaccinale [11].

La majorité des virus isolés des chats présentant des réactions vaccinales est apparue dans les études du début des années 1990 comme différente des virus vaccinaux. Cependant, à la fin des années 1990, de nouvelles études ont montré que l'implication du virus vaccinal dans ces échecs de vaccination devait être plus importante que ce qu'on pensait jusqu'alors. En effet, les méthodes les plus utilisées au début des années 1990 pour comparer des souches virales différentes de FCV étaient : la séro-neutralisation et l'immunofluorescence [40]. Ces deux techniques, toujours extrêmement utilisées de nos jours, ont de multiples applications et variantes. Cependant toutes ces techniques basées sur une reconnaissance immunologique peuvent considérer comme très différentes deux souches qui présentent seulement quelques substitutions nucléotidiques comme différence. En effet, une seule substitution dans une séquence codant pour une partie très immunogène de la protéine de capsid peut fortement modifier la réactivité des anticorps monoclonaux sur ce même épitope. Depuis la fin des années 1990, avec le progrès des techniques de biologie moléculaire et en particulier l'utilisation des techniques de PCR, l'amplification et le séquençage nucléotidique de certaines parties du génome viral sont rendus possibles. Et c'est sur la base de l'analogie entre ces séquences que sont comparés les isolats viraux. Certaines séquences intéressantes du génome viral ont donc été amplifiées par RT-PCR puis séquencées et comparées. A l'heure actuelle, les comparaisons des différentes souches virales de FCV sont généralement établies sur l'étude comparative d'une séquence



correspondant à la région hypervariable E du génome viral. La partie de la protéine de capsid codée par cette région est considérée comme une importante cible des anticorps neutralisant. Avec ces nouvelles bases de comparaisons, Radford *et al.* ont montré qu'une importante partie des réactions vaccinales étaient dues à des virus génétiquement très proches de la souche vaccinale (distants de 0.00-5.33%) [54].

### 2.3.1. Les réactions vaccinales.

Elles apparaissent généralement entre 6 et 7 jour après l'injection du vaccin. D'après les différentes études, les réactions vaccinales surviennent majoritairement après la première injection de primovaccination des jeunes chatons. Les manifestations cliniques observées peuvent résulter soit d'une infection par le virus vaccinal lui-même, soit par une souche de terrain que le chaton était déjà en train d'incuber avant la vaccination. En 1993, Dawson *et al.* ont montré que la majorité des virus isolés suite aux réactions vaccinales est différente de la souche vaccinale utilisée et s'apparente plus à des souches de terrain. Cependant, comme nous venons de le voir précédemment, ce constat est de plus en plus controversé et le rôle joué par la souche vaccinale dans ces réactions est réévaluée à la hausse [11].

Les FCV sont suffisamment répandus dans la population féline pour pouvoir infecter certains chatons avant la réalisation de la vaccination. La meilleure période pour la première injection de primovaccination des chatons est difficile à déterminer, elle est cependant conseillée entre huit et neuf semaines. La période de protection apportée par les anticorps maternels est très variable selon les chats, il en découle que la date de primovaccination optimale va elle aussi être variable. En effet, les taux d'anticorps d'origine maternelle retrouvés chez les chatons sont directement proportionnels aux titres en anticorps sériques qui existent chez la mère. Ils décroissent ensuite progressivement. Ces anticorps interfèrent avec la vaccination par voie parentérale du chaton car ils neutralisent passivement les antigènes vaccinaux. La vaccination n'est donc pas efficace tant que leur taux reste élevé. Des études ont montrées que ces anticorps ont parfois persisté plus de 13 semaines chez certains jeunes et de façon idéale, la vaccination devrait être réalisée lorsque ces taux sont proches de zéro. Cependant, l'absence de vaccination laisse le jeune animal sans défense pendant une « fenêtre de sensibilité », qui correspond à la période durant laquelle la transition immunité passive/compétence immunitaire a lieu. Ce sont pour ces raisons que de nombreux chatons présentent des signes cliniques rattachables à une infection par un calicivirus félin dans leur jeune âge en dépit de la vaccination. Il semble aussi normal que ce FCV provienne d'une souche de terrain et que ces réactions vaccinales surviennent dans des situations où la densité animale est élevée (refuges, chatteries) [11].

Néanmoins dans un premier temps, en cas d'échec vaccinal il faut toujours considérer une éventuelle mauvaise conservation ou administration du vaccin. En effet avant d'envisager une autre raison, il faut s'assurer qu'il n'y ait pas eu de problèmes à ce niveau là. Et dans une telle situation, il est normal de penser que l'affection soit dûe à une souche de terrain.

La difficulté pour trouver un compromis sur la période de réalisation de la primovaccination du chaton ne permet pas d'expliquer les cas de réactions vaccinales impliquant une souche virale très proche ou identique à la souche vaccinale. Plusieurs explications sont proposées :

- Une souche de terrain peut être très proche de la souche vaccinale.
- La séquence sur laquelle est basée la comparaison peut être commune en dépit de l'existence d'importantes différences sur le reste du génome et ce serait là aussi une infection due à une souche de terrain.
- Une autre explication est que la souche vaccinale ne soit pas suffisamment atténuée et qu'elle puisse générer des signes cliniques chez certains individus.
- Par contre ce qui semble le plus probable, est qu'une administration accidentelle de la souche vaccinale prévue pour la voie parentérale ait été réalisée par la voie oronasale. En effet plusieurs études ont montré que l'exposition de chats à des souches vaccinales (donc atténuées) prévues pour la voie parentérale par voie oronasale provoquait une expression clinique plus ou moins sévère. Certains auteurs [55] suggèrent que c'est l'acte même de l'injection sous-cutanée du vaccin qui est préjudiciable, si elle est mal réalisée. Il faut en effet ne pas créer un aérosol de substance vaccinale lors de la préparation de la seringue contenant le vaccin. Il faut de plus bien réaliser l'injection, car le léchage du point d'injection peut également être suffisant pour offrir à la souche vaccinale une porte d'entrée orale.

### 2.3.2. Les rechutes vaccinales.

La rechute vaccinale est considérée comme étant un échec de vaccination survenant au-delà de 21 jours après la vaccination. Une partie des explications envisagées précédemment restent valables mais d'autres éléments sont à prendre en compte.

Le protocole de vaccination classique contre les FCV est identique quelque soit la nature du vaccin utilisé. Il consiste en une primovaccination en deux temps (deux injections à 3 à 4 semaines d'intervalle) suivie de rappels annuels. En effet, Bittle et Rubic, ont montré dès 1975 que le rappel annuel de vaccination contre les FCV assurait une protection de 10 à 12 mois. Ceci peut expliquer les rechutes vaccinales tardives, vers l'approche de la date du rappel de vaccination. Cependant, Dawson *et al* [55], ont montré dans leur étude que la majorité des rechutes vaccinales avait lieu dans les 5 à 6 mois suivant la vaccination. Un tel constat laisse envisager que dans certaines circonstances une vaccination tous les six mois serait plus souhaitable.

Ces échecs vaccinaux peuvent provenir d'une absence de mise en place d'immunisation après la vaccination. C'est possible comme on l'a dit précédemment si la primovaccination du jeune est trop précoce et qu'elle a lieu alors que les taux d'anticorps maternels sont encore élevés. Pour les chats adultes, un système immunitaire déprimé, quelle qu'en soit la raison, par exemple en raison d'un FIV (*Feline immunodeficiency virus*) peut empêcher une bonne réponse immunitaire à la vaccination. Les bonnes pratiques de vaccinations imposent que l'animal soit en bonne santé au moment de la vaccination.

Enfin, une des raisons qui semble essentielle, est la diminution de la réactivité croisée des souches vaccinales traditionnelles. En effet, de nombreuses études

témoignent du fait que ces vaccins historiques n'assurent plus de protection contre certaines souches de terrains hétérologues [38].

## 2.4. L'évolution des souches de terrain.

### *Evolution du FCV au niveau d'un individu :*

Une souche de FCV évolue constamment au cours du temps, et s'adapte à son hôte afin de mieux persister. En effet, dans tout chat présentant une infection persistante, le génome viral est le siège d'un remaniement et en particulier dans les zones responsables de l'antigénicité virale. Cette évolution permet au virus de constamment s'adapter en évitant les réactions immunitaires de l'hôte, il est ainsi capable de persister [35,56].

### *Evolution du FCV dans un groupe de chat :*

De nombreux chats vivent en groupe, que se soit dans un refuge, une chatterie, chez un particulier. Les FCV persistent fréquemment dans ces petites populations souvent isolées les unes des autres.

Une étude a montré que de telles populations de chats pouvaient maintenir une forte prévalence d'infection en dépit d'une vaccination régulière. Dans ces colonies infectées de façon endémique, la variabilité génique des souches de FCV isolées peut être très importante, pouvant aller jusqu'à 19 % ; ce qui est très proche de la zone des 20 – 40 % qui est la limite à partir de laquelle on considère que deux souches sont indépendantes, c'est-à-dire n'ayant pas de lien phylogénique récent [61].

Johnson [27] en 1992 a étudié l'évolution antigénique de la souche FCV-255 chez neuf chats infectés expérimentalement et assurant le portage de la souche. Un test de neutralisation croisé à l'aide d'un antisérum de lapin a été mené. Cinq des neuf isolats viraux étaient antigéniquement différents entre 35 et 169 jours suivant l'inoculation. Ces cinq isolats représentaient quatre différents phénotypes antigéniques. Le virus a donc évolué antigéniquement chez chaque chat.

En 1998, Radford *et al.* [56] ont examiné l'évolution de la région hypervariable E du gène codant pour la protéine de capsid lors d'une part, de 90 passages en culture cellulaire, et d'autre part durant le passage dans une colonie expérimentale de chats infectés persistants. Cette région de la protéine de capsid est connue pour contenir des épitopes neutralisants et certains auteurs suggèrent qu'elle puisse être une cible de l'échappement immunitaire du virus lors de persistance chez l'hôte. Le séquençage de la région a été réalisé plusieurs fois au cours du temps et a permis de montrer que la souche de FCV impliquée dans cette étude évoluait à la fois chez les chats infectés persistants et en culture cellulaire. Ces modifications ont consisté en des pertes de séquences, des substitutions nucléotidiques synonymes ou non. Ils ont montré de plus que le taux d'évolution du FCV chez les chats infectés de façon

persistante était de 0.10 à 1.07 substitution par nucléotide par an au niveau de cette zone du gène de capsid. Ils ont également réalisé des tests de séroneutralisations à partir du sérum prélevé sur un chat à 17 jours post infection et ils l'ont testé sur la souche virale au cours de son évolution. Il n'y a pas eu de modification des profils de neutralisation sur la souche évoluant *in vitro*, par contre une forte diminution du taux de neutralisation pour celles évoluant chez les chats infectés persistants. Ceci témoigne du fait que les modifications *in vivo* de la souche virale ont fortement altéré son profil antigénique, ce qui lui permet d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. Un tel résultat prouve que la pression immunitaire de l'hôte tend à sélectionner des souches capables d'éviter cette réponse immunitaire. Ainsi, les FCV, comme plusieurs virus à ARN, peuvent présenter plusieurs formes génétiquement et antigéniquement différentes après répllication virale chez l'hôte et cela pourrait contribuer à la mise en place d'infections chroniques et persistantes [56].

De telles colonies constituent d'après de nombreux auteurs un environnement particulièrement fertile pour l'apparition de nouvelles souches virales. En effet, la majorité des cas index des différentes épizooties à VS-FCV était initialement issue de refuges où de nombreux chats coexistaient [26,49].

Certains éléments concernant la répartition du virus dans ce genre de colonie ont pu être déduits en faisant un suivi individuel de certains chats et en pratiquant de nombreux isollements viraux au cours du temps. Trois types d'individus existent dans ces colonies, on y observe des excréteurs persistants, des excréteurs intermittents et des chats résistants à l'infection. Ces derniers restent non infectés soit en raison d'une immunité adaptée due à leur âge (les plus jeunes avec les anticorps d'origine maternelle), soit ils présentent une résistance génétique directement liée à la modification d'un récepteur. Cette résistance a pu être observée chez certaines personnes envers certains calicivirus humains. Aucune étude chez le chat n'a pour l'instant mis en évidence une telle résistance [62].

L'état de portage dans ces colonies semble être le fruit au niveau de chaque chat soit d'une réelle infection persistante soit de multiples réinfections. Les chats vont ainsi excréter, selon le cas, une seule souche virale ou une forme plus ou moins modifiée de cette souche ou une toute autre souche. Les FCV évoluent donc très rapidement dans de tels environnements.

## **2.5. L'évolution de la souche vaccinale chez l'hôte.**

Une autre étude a été conduite par Radford *et al.* [60] dans une colonie d'une trentaine de chats infectée de façon endémique par des FCV. Les membres de cette colonie présentaient de façon intermittente des symptômes modérés d'atteinte de l'appareil respiratoire supérieur en dépit d'une vaccination régulière de ses membres avec un vaccin vivant modifié (souche F9) injecté par voie sous-cutanée. Des prélèvements par écouvillonnages oropharyngiens ont conduit à l'isolement de trois FCV. Ces FCV se sont trouvés être après analyse comparative très proches de la souche vaccinale qui était utilisée depuis plusieurs années dans cette colonie. L'étude comparative a été menée sur la séquence nucléotidique correspondant à la partie hypervariable E du gène de la protéine de capsid. Des études précédentes

ont établi le fait que deux virus qui présentent moins de 5% de différences dans le séquençage de cette partie du génome partageaient un ancêtre commun récent. Et au contraire une différence de 20 à 40 %, conduit à la conclusion que les deux virus concernés sont épidémiologiquement distincts. Les trois virus isolés dans cette étude étaient seulement différents de 1 à 3% les uns des autres, ce qui suggère qu'ils sont des variants du même virus hypothétique et c'est sur lui que le reste du raisonnement est porté. Ce virus présente une différence de 8% avec la souche vaccinale utilisée. Dans cette étude, plusieurs hypothèses sont proposées afin de définir l'origine du virus. Tout d'abord, un virus semblable au virus vaccinal aurait pu infecter naturellement les animaux ; cependant il n'a jamais été isolé auparavant. Une autre possibilité est que ce virus constitue un variant mineur présent dans le vaccin ; cependant cette hypothèse semble improbable. Le virus isolé aurait également pu apparaître lors du processus de fabrication ; cependant le nombre de passage sur culture cellulaire nécessaire à la production du vaccin est insuffisant pour provoquer les différences observées entre le virus vaccinal et le virus isolé. Ainsi, les auteurs ont conclu que le virus isolé provenait du virus vaccinal et que les modifications observées dans le virus isolé étaient dues à son évolution lors du passage dans l'animal. Il est possible que la modification de la séquence nucléotidique secondaire au passage chez l'animal corresponde à une adaptation permettant la persistance chez l'hôte et qu'elle soit en parallèle à l'origine d'une augmentation de la virulence par rapport à la souche vaccinale. En effet, nous avons mentionné précédemment qu'une variation antigénique se produisait lors d'une infection persistante. Ainsi, les auteurs ont montré que le virus vaccinal pouvait persister et évoluer chez l'animal [60].

## **2.6. L'apparition de souches hautement pathogènes.**

Les différentes épizooties à VS-FCV qui ont frappé les Etats-Unis, ont montré que la vaccination classique contre les calicivirus félin n'apportait aucune protection contre ces nouveaux virus émergents. En effet de nombreuses victimes de ces crises étaient des chats adultes avec un protocole vaccinal à jour [25,49,67].

Comme nous avons pu le voir précédemment dans l'épizootie à FCV-Kaos, les adultes étaient significativement plus sévèrement atteints que les chatons. Un tel constat a déjà été fait dans les études concernant le RHDV. L'explication envisagée par rapport à ce résultat est que la réponse immunitaire de l'animal infecté est directement associée à la sévérité de l'expression clinique.

Par contre dans cette épizootie, les facteurs « âge » et « statut vaccinal » n'ont pas pu être dissociés. En effet la majorité des chats adultes atteints étaient soit vaccinés, soit de statut vaccinal inconnu. Cependant comme nous l'avons vu précédemment, les autres épizooties décrites ont également témoigné d'une atteinte particulièrement sévère des chats vaccinés. Donc aucune preuve d'effet défavorable de la vaccination dans de telles crises n'a été trouvée.

Les tests de séroneutralisations n'ont montré aucune réduction significative de l'infectivité virale quand un sérum anti-FCV-F9 (souche vaccinale) a été testé contre FCV-Diva, FCV-Ari et FCV-Kaos. De même des sérums contre ces différents VS-FCV ne neutralisent pas les autres VS-FCV.

Bien que la vaccination classique contre les FCV ne soit pas apparue comme protectrice dans les crises qui ont sévi jusqu'alors, on ne peut pas exclure que les souches futures de VS-FCV soient non résistantes à la vaccination. En effet, les comparaisons géniques et antigéniques des différentes souches de VS-FCV n'ont pas mis en évidence de liens phylogénétiques communs. Donc on peut sereinement envisager que si de nouvelles épizooties surviennent, elles seront dues à des souches différentes de celles déjà connues et pourront éventuellement répondre à une vaccination présentant une bonne réactivité hétérologue [26].

### **3. Les défis et perspectives.**

Comme de nombreux virus à ARN, les calicivirus félins existent sous un grand nombre de souches. Nous avons vu précédemment que chaque FCV évoluait constamment afin de s'adapter au mieux à son hôte, ce qui lui permet de persister. Une telle faculté d'adaptation contribue à limiter l'efficacité des vaccins sur du long terme [52,62].

Les souches vaccinales historiques (FCV-F9, FCV-255, FCV-2280), utilisées pendant plus de vingt ans ont montré leurs limites vers la fin des années 1990. En effet plusieurs études ont montré leur manque de réactivité croisée envers les nouvelles souches de terrains. De plus la prévalence des infections à FCV reste, malgré la vaccination, extrêmement haute. En effet ces vaccins réduisent l'expression clinique de la maladie mais n'empêchent en aucun cas l'infection par un FCV.

#### **3.1. Les vaccins nouvelle génération appliqués à la vaccination contre le FCV.**

Face à ce constat, la recherche de nouveaux vaccins a été active, prolifique mais les innovations proposées n'ont pour l'instant pas apporté de solutions parfaites aux problèmes causés par les FCV. Jusqu'à encore très récemment la vaccination consistait presque exclusivement soit en des vaccins vivants atténués des souches historiques (ou dérivés de celles-ci) et à quelques vaccins inactivés de ces mêmes souches.

Ainsi à partir des années 2000, des essais de vaccins nouvelle génération contre le FCV ont été menés. Plusieurs types de vaccins vectorisés recombinants ont été

proposés. Le principe est le suivant : un gène qui code pour une protéine d'intérêt (ayant des propriétés immunogènes, c'est-à-dire la protéine de capsid chez les FCV) est inséré au sein du génome d'un organisme (bactérie ou virus) en général apathogène chez l'espèce à vacciner. Ce vecteur vivant exprime alors l'antigène étranger chez l'hôte durant l'infection vaccinale.

En 2002, McCabe *et al.* [42] ont vacciné expérimentalement des chats avec un *Myxoma virus* atténué recombinant exprimant la protéine de capsid du FCV. *Myxoma virus* est un virus de la famille des *Poxviridae* (genre *Leporipoxvirus*) et agent de la myxomatose du lapin. C'est le gène de capsid de la souche FCV-F9 qui avait été choisi. La protection obtenue fut correcte, mais n'apporta rien de plus par rapport aux vaccins déjà sur le marché. En 2005, les mêmes auteurs [43] ont amélioré leur projet, ils ont vacciné des chats avec un *Myxoma virus* atténué recombinant exprimant les protéines de capsides issues de deux souches de FCV : FCV-F9 et FCV-LS015. Ce vaccin chimérique a permis l'obtention d'une bonne protection homologe et hétérologue et laisse envisager une possible application commerciale.

En 2003, Schwantes *et al.* [65] ont vacciné expérimentalement des chats avec un *feline foamy virus* (FFV) recombinant exprimant la séquence hypervariable E de la protéine de capsid des FCV. *Feline foamy virus* est un virus de la famille des *Retroviridae* (genre *Spumavirus*). Les résultats n'ont pas été probants, une protection partielle a pu être obtenue.

Les vaccins vectorisés sont en général des vaccins où le vecteur sert simplement de support à l'expression de gènes étrangers afin de produire l'immunogène désiré, c'est le cas des deux essais précédents. Certains auteurs dont Yokoyama *et al.* [80] ont travaillé sur des vaccins mixtes où le vecteur sert également d'immunogène. En effet les deux principaux virus responsables des atteintes des voies respiratoires hautes du chat, ou plus communément appelées « syndrome coryza » sont le FCV et le FHV-1 (*Feline herpesvirus* de type 1). Yokoyama *et al.* ont développé un *Feline herpesvirus* de type 1 recombinant exprimant la protéine de capsid d'un FCV. Cette association n'a pas permis d'augmenter l'efficacité de l'immunisation.

En 2002, Sommerville *et al.* [66] ont tenté d'adapter un autre type de vaccin de nouvelle génération à la vaccination contre le FCV, le vaccin à ADN. En effet, il est possible d'injecter directement de l'ADN codant pour une protéine vaccinante sans utiliser de vecteurs vivants : il s'agit du principe des vaccins à ADN. Le gène est porté par un plasmide bactérien capable d'exprimer l'antigène dans une cellule eucaryote. Le plasmide est injecté à l'hôte, et l'antigène étranger produit stimule le système immunitaire. Sommerville *et al.* ont donc vacciné des chats avec des plasmides bactériens exprimant la protéine de capsid de la souche FCV-F9. Une protection partielle a été obtenue.

### 3.2. La recherche de nouvelles souches vaccinales.

En parallèle au développement des vaccins nouvelle génération, de nombreuses équipes de recherches travaillent sur l'optimisation des vaccins traditionnels. En effet les vaccins vivants atténués, inactivés et sous-unités assurent la quasi-totalité du marché des vaccins contre le FCV. Récemment un vaccin inactivé non adjuvé a été commercialisé en Europe [62].

La majorité des recherches concerne la recherche de nouvelles souches vaccinales pouvant succéder aux souches historiques. En effet, une des problématiques pour les laboratoires pharmaceutiques est de trouver une souche virale qui présente une très bonne réactivité hétérologue.

En 2000, Poulet *et al.* [51] ont repéré à l'occasion de tests de séroneutralisation croisée entre différents isolats de FCV, que certains isolats avaient une forte dominance antigénique tout en restant antigéniquement différents les uns des autres. Les souches concernées ayant le plus attiré l'attention étaient la souche FCV-G1 d'origine française et FCV-431 d'origine anglaise. La sélection de ces souches a été réalisée par des tests de séroneutralisation croisée vis-à-vis des isolats d'un panel de référence. Ce panel de référence est constitué de 18 isolats actuels de FCV prélevés sur des chats présentant des signes d'infection d'une calicivirose féline et provenant de trois zones géographiques distinctes (7 isolats nord-américains, 7 isolats français et 4 isolats britanniques). Lors des tests de séroneutralisations croisées entre les 18 isolats de FCV du panel de référence, il s'est avéré de manière surprenante que l'anti-sérum de l'isolat FCV-431 neutralise 14 des 17 isolats hétérologues du panel de référence (le titre homologue de séroneutralisation n'est pas pris en compte). Par comparaison les anti-sérum des souches vaccinales « historiques » FCV-F9 et FCV-255 ne neutralisent chacun que 2 des 18 isolats du panel.

En 2004, Poulet *et al.* [52] ont proposé un vaccin constitué de deux souches, les souches FCV-431 et FCV-G1. La combinaison de ces deux souches provoque avantageusement un effet synergique. Lors d'étude sur la complémentarité des ces souches, les réponses immunitaires induites par FCV-G1 seule, FCV-431 seule ou l'association des deux (G1 + 431) ont été comparées. Le groupe d'animaux ayant été immunisé par la combinaison des deux souches a bénéficié d'une meilleure protection clinique.

La mise en place de nouveaux vaccins, basés sur des souches présentant une très bonne réactivité hétérologue, semble être la logique actuelle des firmes pharmaceutiques. Néanmoins, comme on a pu le voir dans le passé avec la souche FCV-F9, la réactivité hétérologue des souches vaccinales s'estompe au cours du temps. Cette approche permet néanmoins aux vaccins actuels de toujours assurer une très bonne protection clinique.

Cependant le vrai problème de la vaccination contre les FCV est qu'aucun des vaccins proposés jusqu'alors ne permet d'éviter l'infection. Hors comme nous l'avons vu dans les parties précédentes, lorsque l'on vaccine un animal infecté persistant avec une souche FCV de terrain, cette souche va évoluer de telle sorte à échapper à la réponse immunitaire générée par le vaccin et celles générées lors d'infections



naturelles. C'est selon ce mécanisme que les souches vaccinales neutralisent au cours du temps de moins en moins de souches de terrain.

Par conséquent, la lutte contre les FCV doit passer par la mise en place de vaccins empêchant l'infection. Ce qui permettra de diminuer la prévalence des FCV dans la population féline, estimée à l'heure actuelle à 25%.



## CONCLUSION

Le calicivirus félin reste un agent pathogène majeur en médecine vétérinaire féline.

En effet, du fait de l'importante prévalence de l'infection à FCV, de la rapide évolution des souches virales de terrain conduisant à l'évitement de la réponse immunitaire vaccinale, et de l'émergence ces dernières années de souches hautement pathogènes, le calicivirus félin doit être considéré comme un pathogène potentiellement dangereux pour la population féline.

Pour ces raisons et au vu de l'imprévisibilité et de la gravité des épizooties à VS-FCV, le vétérinaire praticien doit faire preuve d'une vigilance accrue lors de la gestion de chats présentant une atteinte respiratoire ou oronasale quelle qu'en soit la gravité.

Une meilleure connaissance de sa pathogénie, de ses stratégies de persistance chez l'hôte est nécessaire pour améliorer les moyens de lutte, en particulier la mise en place de vaccins empêchant l'infection et la persistance chez les chats.

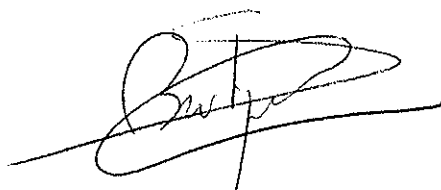
**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**M. AUGUSTYNIAK Michel, Didier, Patrick**  
a été admis(e) sur concours en : 2000  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 31/03/05  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.


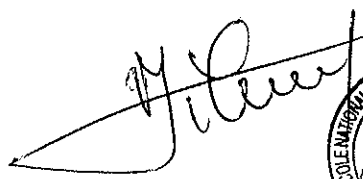
**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

Je soussigné, S. BERTAGNOLI, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
autorise la soutenance de la thèse de :  
**M. AUGUSTYNIAK Michel, Didier, Patrick**  
intitulée :  
*« Les calicivirus félines (FCV) : variabilité génétique et pathologique. »*

**Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Stéphane BERTAGNOLI**




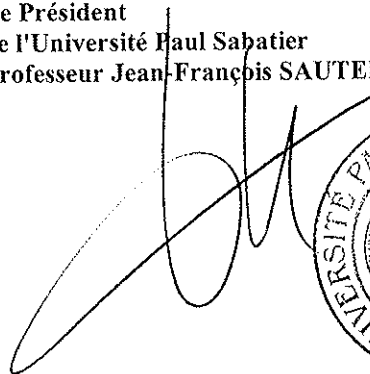
**Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON**



**Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Christophe PASQUIER**



**Vu le : 26 OCT. 2006  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier  
Professeur Jean-François SAUTEREAU**



## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bennett, D., Gaskell, R.M., Mills, A., *et al.* Detection of feline calicivirus antigens in the joints of infected cats. *Veterinary Record* 1989; **124**:329-332.
- [2] Bittle, J. L., York, C. J., Newberne, J. W., *et al.* Serologic relationship of new feline cytopathogenic viruses. *American Journal of Veterinary Research* 1960; **21**:547-550.
- [3] Bittle, J. L., Rubic, W.J. Immunization against feline calicivirus infection. *American Journal of Veterinary Research* 1976; **37**:275-278.
- [4] Carter, M. J. Transcription of feline calicivirus RNA. *Archives of Virology* 1990; **114**:143-152.
- [5] Carter, M. J., Milton, I.D., Meanger, J., *et al.* The complete nucleotide sequence of feline calicivirus. *Virology* 1992; **190**:443-448.
- [6] Clarke, I. N., Lambden, P.R. The molecular biology of caliciviruses. *Journal of General Virology* 1997; **79**:291-301.
- [7] Clarke, I. N., Lambden, P.R. Organization and expression of calicivirus genes. *The Journal of Infectious Diseases* 2000; **181**:309-316.
- [8] Coutts, A. J., Dawson, S., Willoughby, K., *et al.* Isolation of feline respiratory viruses from clinically healthy cats at UK cat shows. *Veterinary Record* 1994; **135**:555-556.
- [9] Daughenbaugh, K. F., Fraser, C.S., Hershey, J.W., *et al.* The genome-linked protein VPg of the Norwalk virus binds eIF3, suggesting its role in translation initiation complex recruitment. *The EMBO Journal*. 2003; **22**:2852-2859.
- [10] Dawson, S., McArdle, F., Bennett, M., *et al.* Typing of feline calicivirus isolates from different clinical groups by virus neutralisation tests. *Veterinary Record* 1993; **133**:13-17.
- [11] Dawson, S., McArdle, F., Bennett, M., *et al.* Investigation of vaccine reactions and breakdowns after feline calicivirus vaccination. *Veterinary Record* 1993; 346–350.
- [12] Dawson, S., Bennett, D., Carter, S.D., *et al.* Acute arthritis of cats associated with feline calicivirus infection. *Research in Veterinary Science* 1994; **56**:133-143.
- [13] Dick, C. P., Johnson, R.P., Yamashiro, S. Sites of persistence of feline calicivirus. *Research in Veterinary Science* 1989; **47**:367-376.
- [14] Duizer, E., Bijkerk, P., Rockx, B. Inactivation of Caliciviruses. *Applied and Environmental Microbiology* 2004; **70**:4538-4543.
- [15] Fastier, L. B. A new feline virus isolated in tissue culture. *American Journal of Veterinary Research* 1957; **18**:382-389.
- [16] Foley, J., Hurley, K., Pesavento, P.A., *et al.* Virulent systemic feline calicivirus infection: local cytokine modulation and contribution of viral mutant. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2005; **8**:55-61.
- [17] Geissler, K., Schneider, K., Platzer, *et al.* Genetic and antigenic heterogeneity among feline calicivirus isolates from distinct disease manifestations. *Virus Research* 1997; **48**:193-206.
- [18] Geissler, K., Schneider, K., Fleuchaus, A., *et al.* Feline calicivirus capsid protein expression and capsid assembly in cultured feline cells. *Journal of Virology* 1999; **73**:834-838.

- [19] Geissler, K., Schneider, K., Truyen, U. Mapping neutralizing and non-neutralizing epitopes on the capsid protein of feline calicivirus. *Journal of Veterinary Medicine B* 2002; **48**:55-60.
- [20] Green, K. Y., Ando, T., Balayan, M.S., *et al.* Taxonomy of the Caliciviruses. *The Journal of Infectious Diseases* 2000; **181**:322-330.
- [21] Harbour, D. A., Howard, P.E., Gaskell, R.M. Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats 1980 to 1989 *Veterinary Record* 1991; **128**:77-80.
- [22] Hashimoto, M., Roerink, F., Tohya, Y., *et al.* Genetic analysis of the RNA polymerase gene of caliciviruses from dogs and cats. *The Journal of Veterinary Medical Science* 1999; **61**:603-608.
- [23] Herbert, T. P., Brierley, I., Brown, T.D. Detection of the ORF3 polypeptide of feline calicivirus in infected cells and evidence for its expression from a single, functionally bicistronic, subgenomic mRNA. *Journal of General Virology* 1996; **77**:123-127.
- [24] Hoover, E. A., Kahn, D.E. Experimentally induced feline calicivirus infection: clinical signs and lesions. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1975; **166**:463-468.
- [25] Hurley, K., Pesavento, P., Pedersen, N.C., *et al.* An outbreak of hemorrhagic calicivirus in cats in southern California, summer 2002. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2004; **224**:241-249.
- [26] Hurley, K. F., Sykes, J.E. Update on feline calicivirus: new trends. *The Veterinary Clinics North America Small Animal Practice* 2003; **33**:759-772
- [27] Johnson, R. P. Antigenic change in feline calicivirus during persistent infection. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1992; **56**:326-330.
- [28] Kahn, D. E., Gillespie, J.H. Feline viruses. X. Characterization of a newly-isolated picornavirus causing interstitial pneumonia and ulcerative stomatitis in the domestic cat. *The Cornell Veterinarian*. 1970; **60**:669-683.
- [29] Kahn, D. E., Hoover, E.A., Bittle, J.L. Induction of immunity to feline caliciviral disease. *Infection and Immunity* 1975; **11**:1003-1009.
- [30] Kahn, D. E., Hoover, E.A. Feline caliciviral disease: experimental immunoprophylaxis. *American Journal of Veterinary Research* 1976; **37**:279-283.
- [31] Knowles, J. O., Gaskell, R.M., Gaskell, C.J. Prevalence of feline calicivirus, feline leukaemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis. *Veterinary Record* 1989; **124**:336-338.
- [32] Knowles, J. O., McArdle, F., Dawson, S., *et al.* Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats. *Veterinary Microbiology* 1991; **27**:205-219.
- [33] Kreutz, L. C., Seal, B.S., Mengeling, W.L. Early interaction of feline calicivirus with cells in culture. *Archives of Virology* 1994; **136**:19-34.
- [34] Kreutz, L. C., Seal, B.S. The pathway of feline calicivirus entry. *Virus Research* 1995; **35**:63-70.
- [35] Kreutz, L. C., Johnson, R.P., Seal, B.S. Phenotypic and genotypic variation of feline calicivirus during persistent infection of cats. *Veterinary Microbiology* 1998; **59**.
- [36] Kuyumcu-Martinez, M., Belliot, G., Sosnovtsev, S.V., *et al.* Calicivirus 3C-like proteinase inhibits cellular translation by cleavage of poly(A)-binding protein. *Journal of Virology* 2004; **78**:8172-8182.
- [37] Langloss, J. M., Hoover, E.A., Kahn, D.E., *et al.* In vitro interaction of alveolar macrophages and pneumocytes with feline respiratory viruses. *Infection and Immunity* 1978; **20**:836-841.

- [38] Lauritzen, A., Jarrett, O., Sabara, M., *et al.* Serological analysis of feline calicivirus isolates from the United States and United Kingdom. *Veterinary Microbiology* 1997; **56**:55-63.
- [39] Lee, K. M., Gillespie, J.H. Thermal and pH stability of feline calicivirus. *Infection and Immunity* 1973; **7**:678-679.
- [40] Marsilio, F., Martino, B.D., Decaro, N., *et al.* A novel nested PCR for the diagnosis of calicivirus infections in the cat. *Veterinary Microbiology* 2005; **105**:1-7.
- [41] McArdle, F., Dawson, S., Carter, M.J., *et al.* Feline calicivirus strain differentiation using monoclonal antibody analysis in an enzyme-linked immuno-flow-assay. *Veterinary Microbiology* 1996; **51**:197-206.
- [42] McCabe, V. J., Tarpey, I., Spibey, N. Vaccination of cats with an attenuated recombinant myxoma virus expressing feline calicivirus capsid protein. *Vaccine* 2002; **20**:2454-2462.
- [43] McCabe, V. J., Spibey, N. Potential for broad-spectrum protection against feline calicivirus using an attenuated myxoma virus expressing a chimeric FCV capsid protein. *Vaccine* 2005; **23**:5380-5388.
- [44] Mitra, T., Sosnovtsev, S.V., Green, K.Y. Mutagenesis of tyrosine 24 in the VPg protein is lethal for feline calicivirus. *Journal of Virology* 2004; **78**:4931-4935.
- [45] Neill, J. D., Reardon, I.M., Heinrichson, R.L. Nucleotide sequence and expression of the capsid protein gene of feline calicivirus. *Journal of Virology* 1991; **65**:5440-5447.
- [46] Neill, J. D. The subgenomic RNA of feline calicivirus is packaged into viral particles during infection. *Virus Research* 2002; **87**:89-93.
- [47] Pederson, N. C., Laliberte, L., Ekman, S. A transient febrile "limping" syndrome of kittens caused by two different strains of feline calicivirus. *Feline Practice* 1983; **13**:26-35.
- [48] Pederson, N. C., Hawkins, K.F. Mechanisms for persistence of acute and chronic feline calicivirus infections in the face of vaccination. *Veterinary Microbiology* 1995; **47**:142-156.
- [49] Pederson, N. C., Elliott, J.B., Glasgow, A., *et al.* An isolated epizootic of hemorrhagic-like fever in cats caused by a novel and highly virulent strain of feline calicivirus. *Veterinary Microbiology* 2000; **73**:281-300.
- [50] Pesavento, P. A., MacLachlan, N.J., Dillard-Telm, L., *et al.* Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats. *Veterinary Pathology* 2004; **41**:257-263.
- [51] Poulet, H., Brunet, S., Soulier, *et al.* Comparison between acute oral/respiratory and chronic stomatitis/gingivitis isolates of feline calicivirus: pathogenicity, antigenic profile and cross-neutralisation studies. *Archives of Virology* 2000; 243-261.
- [52] Poulet, H., Brunet, S., Leroy, *et al.* Immunisation with a combination of two complementary feline calicivirus strains induces a broad cross-protection against heterologous challenges. *Veterinary Microbiology* 2005; **106**:17-31.
- [53] Povey, R. C. Serological Relationships Among Feline Caliciviruses. *Infection and Immunity* 1974; **10**:1306-1314.
- [54] Prasad, B. V., Rothnagel, R., Jiang, X., *et al.* Three-dimensional structure of baculovirus-expressed Norwalk virus capsids. *Journal of Virology* 1994; **68**:5117-5125.

- [55] Radford, A. D., Bennett, M., McArdle, F., *et al.* The use of sequence analysis of a feline calicivirus (FCV) hypervariable region in the epidemiological investigation of FCV related disease and vaccine failures. *Vaccine* 15 1997; **15**:1451–1458.
- [56] Radford, A. D., Turner, P.C., Bennett, M., *et al.* Quasispecies evolution of a hypervariable region of the feline calicivirus capsid gene in cell culture and in persistently infected cats. *Journal of General Virology* 1998; **79**:1–10.
- [57] Radford, A. D., Willoughby, K., Dawson, S., *et al.* The capsid gene of feline calicivirus contains linear B-cell epitopes in both variable and conserved regions. *Journal of Virology* 1999; **73**:8496–8502.
- [58] Radford, A. D., Dawson, S., Wharmby, C., *et al.* Comparison of serological and sequence-based methods for typing feline calicivirus isolates from vaccine failures. *Veterinary Record* 2000; **146**:117–123.
- [59] Radford, A. D., Sommerville, L.M., Dawson, S., *et al.* Molecular analysis of isolates of feline calicivirus from a population of cats in a rescue shelter. *Veterinary Record* 2001; **149**:477–481.
- [60] Radford, A. D., Sommerville, L., Ryvar, R., *et al.* Endemic infection of a cat colony with a feline calicivirus closely related to an isolate used in live attenuated vaccines. *Vaccine* 2001; **19**:4358–4362.
- [61] Radford, A. D., Dawson, S., Ryvar, R., *et al.* High genetic diversity of the immunodominant region of the feline calicivirus capsid gene in endemically infected cat colonies. *Virus Genes* 27 2003; **27**:145–155.
- [62] Radford, A. D., Dawson, S., Coyne, K.P., The challenge for the next generation of feline calicivirus vaccines. *Veterinary Microbiology* 2006.
- [63] Reubel, G. H., Hoffmann, D.E., Pedersen, N.C. Acute and chronic faucitis of domestic cats. A feline calicivirus-induced disease. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 1992; **22**:1347–1360.
- [64] Schorr-Evans, E. M., Poland, A., Pedersen, N.C. An epizootic of highly virulent feline calicivirus disease in a hospital setting in New England. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2003; **5**:214–226.
- [65] Schwantes, A., Truyen, U., Weikel, J., *et al.* Application of chimeric feline foamy virus-based retroviral vectors for the induction of antiviral immunity in cats. *Journal of Virology* 2003; **77**:7830–7842.
- [66] Sommerville, L. M., Radford, A.D., Glenn, M., *et al.* DNA vaccination against feline calicivirus infection using a plasmid encoding the mature capsid protein. *Vaccine* 2002; **20**:1787–1796.
- [67] Sosnovtsev, S. V., Sosnovtseva, S.A., Green, K.Y. Cleavage of the feline calicivirus capsid precursor is mediated by a virus-encoded proteinase. *Journal of Virology* 1998; **72**:3051–3059.
- [68] Sosnovtsev, S. V., Green, K.Y. Identification and genomic mapping of the ORF3 and VPg proteins in feline calicivirus virions. *Virology* 2000; **277**:193–203.
- [69] Sosnovtsev, S. V., Garfield, M., Green, K.Y. Processing map and essential cleavage sites of the nonstructural polyprotein encoded by ORF1 of the feline calicivirus genome. *Journal of Virology* 2002; **76**:7060–7072.
- [70] Sosnovtsev, S. V., Prikhod'ko, E.A., Belliot, G., *et al.* Feline calicivirus replication induces apoptosis in cultured cells. *Virus Research* 2003; **94**:1–10.
- [71] Sosnovtsev, S. V., Belliot, G., Chang, K.O., *et al.* Feline calicivirus VP2 is essential for the production of infectious virions. *Journal of Virology* 2005; **79**:4012–4024.



- [72] Sykes, J. E., Studdert, V.P., Browning, G.F. Detection and strain differentiation of feline calicivirus in conjunctival swabs by RT-PCR of the hypervariable region of the capsid protein gene. *Archives of Virology* 1998; **143**:1321-1334.
- [73] Tenorio, A. P., Franti, C.E., Madewell, B.R., *et al.* Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1991; **29**:1-14.
- [74] Thiel, H. J., Konig, M. Caliciviruses: an overview. *Veterinary Microbiology* 1999; **69**:52-62.
- [75] Thurston-Enriquez, J. A., Haas, C.N., Jacangelo, J., *et al.* Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; **69**:577-582.
- [76] Tohya, Y., Yokoyama, N., Maeda, K., *et al.* Mapping of antigenic sites involved in neutralization on the capsid protein of feline calicivirus. *Journal of General Virology* 1997; **78**:303-305.
- [77] Wardley, R. C. Feline calicivirus carrier state. A study of the host/virus relationship. *Archives of Virology* 1976; **52**:243-249.
- [78] Wardley, R. C., Povey, R.C. The clinical disease and patterns of excretion associated with three different strains of feline caliciviruses. *Research in Veterinary Science* 1977; **27**:7-14.
- [79] Willcocks, M. M., Carter, M.J., Roberts, L.O. Cleavage of eukaryotic initiation factor eIF4G and inhibition of host-cell protein synthesis during feline calicivirus infection. *Journal of General Virology* 2004; **85**:1125-1130.
- [80] Yokoyama, N., Fujita, K., Damiani, A., *et al.* Further development of a recombinant feline herpesvirus type 1 vector expressing feline calicivirus immunogenic antigen. *The Journal of Veterinary Medical Science* 1998; **60**:717-723.



Toulouse, 2006

**NOM : AUGUSTYNIAK**

**Prénom : Michel**

**TITRE : Les calicivirus félins (FCV): variabilité génétique et pathologique.**

**RESUME** : L'infection par les calicivirus félins (FCV) est une cause courante d'affection orale et respiratoire haute chez le chat. De nos jours, les FCV sont de plus en plus associés à un syndrome fébrile hémorragique hautement contagieux. Dans un premier temps, l'auteur présente la famille des *Caliciviridae*, en particulier la taxonomie, la morphologie, et l'organisation génomique des virus qui la composent. Il établit ensuite un bilan des connaissances actuelles concernant les FCV, l'épidémiologie, ainsi que l'aspect clinique et lésionnel des affections qu'ils induisent. La conduite à tenir en cas d'épizootie impliquant un FCV hautement pathogène est alors précisée. Enfin, l'auteur aborde le problème particulier de l'immunoprophylaxie de l'infection par le FCV. Les échecs de vaccinations, et les défis pour la nouvelle génération de vaccins sont envisagés à cette occasion.

**MOTS-CLES** : Caliciviridae, FCV, VS-FCV, chats, variabilité génétique, pouvoir pathogène

---

**ENGLISH TITLE : Feline caliciviruses (FCVs): genetic and pathologic variability.**

**ABSTRACT** : Infection with feline caliciviruses (FCVs) is a common cause of upper respiratory and oral disease in cats. Nowadays FCVs are increasingly reported as a cause of a highly contagious febrile hemorrhagic syndrome. At first, the author presents the *Caliciviridae* family, its viruses' taxonomy, morphology and genome organization. Then, he reviews the current knowledge about FCVs and the epidemiology, the clinic, and the lesions of the diseases they induce. Specific control measures in case of an outbreak of Virulent Strain FCV infections are then recommended. In a last part the author addresses the particular problems of immunoprophylaxis of infection with FCV. The vaccination failures and the challenges for the next generation of feline calicivirus vaccine are also discussed.

**KEYWORDS** : Caliciviridae, FCV, VS-FCV, cats, genetic variability, pathogenicity