



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

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

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 2847

To cite this document :

Stevenin, Clélia (2009) Etude d'une série d'infections nosocomiales par une souche hypervirulente de calicivirus félin Thesis

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

ETUDE D'UNE SERIE D'INFECTIONS NOSOCOMIALES PAR UNE SOUCHE HYPERVIRULENTE DE CALICIVIRUS FELIN

THESE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*Présentée et soutenue publiquement en 2008
Devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
Par*

STEVENIN Clélia
Née le 17 Juillet 1984 à Chambéry (73)

Directeur de Thèse : Mr Le Docteur BERTAGNOLI Stéphane

JURY

PRESIDENT :

Mr Christophe PASQUIER : Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESEURS :

Mr Stéphane BERTAGNOLI : Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Mr Brice REYNOLDS : Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

ETUDE D'UNE SERIE D'INFECTIONS NOSOCOMIALES PAR UNE SOUCHE HYPERVIRULENTE DE CALICIVIRUS FELIN

THESE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRAIRE

DIPLOME D'ETAT

*Présentée et soutenue publiquement en 2008
Devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
Par*

STEVENIN Clélia
Née le 17 Juillet 1984 à Chambéry (73)

Directeur de Thèse : Mr Le Docteur BERTAGNOLI Stéphane

JURY

PRESIDENT :

Mr Christophe PASQUIER : Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESEURS :

Mr Stéphane BERTAGNOLI : Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Mr Brice REYNOLDS : Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

REMERCIEMENTS

A NOTRE PRESIDENT DE JURY DE THESE

Professeur Christophe PASQUIER

Praticien Hospitalier

Virologie (Université Paul Sabatier)

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Docteur Stéphane BERTAGNOLI

Maître de conférences de classe normale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie infectieuse

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse, et d'aider durant le processus de correction.

Qu'il reçoive mes plus sincères remerciements.

Monsieur le Docteur Brice REYNOLDS

Maître de conférences contractuel de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores

Pour sa rapidité et sa présence durant toute la rédaction de ma thèse. Pour sa recherche du mot juste et ses relectures patientes.

Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

REMERCIEMENTS :

Je tiens à remercier en premier lieu ma famille :

Mes parents, pour avoir toujours été là et m'avoir soutenue pendant toutes ces années de dur labeur. Pour les conseils souvent avisés bien que rarement suivis, mais surtout pour leur amour inconditionnel.

Mes sœurs, Gaëlle et Géraldine pour leur présence et leur soutien, jusque dans les entraînements sur leurs animaux de compagnie. Pour leur générosité et leur amour sans faille.

Stéphane, pour sa présence discrète mais indispensable.

Fabien, tout nouveau et pourtant tellement présent

Mes nièces et neveux : Maxime, Clémence et Josué, pour me garder l'esprit jeune et naïf sur le monde qui m'entoure. Pour leur émerveillement chaque jour renouvelé. Apprenez vite à lire pour déchiffrer cette dédicace :-p

A mes ami(e)s :

Charly, pour tous ces bons moments passés ensemble. Pour les soirées passées à refaire le monde, et les cours à discuter grâce à MSN 1.0. Pour les appels de 3h25 qui font chauffer l'oreille.

Elodie, pour sa disponibilité et sa patience, pour ses ficus apprivoisés...

Delphine (et Akira, et Obiwan, et Carbone, et DivX et et et.....), pour son optimisme démesuré et son humour incisif, voire canin(e)...

Coralie (Et Pitou, et Atix, et Ga), pour les longues promenades canines, pour des vacances extraordinaires, pour des repas toujours délicieux....

A toute l'équipe du JDR qui supporte difficilement mes jets manipulation + subterfuge

A Maya, pour son amitié sincère et indéfectible, pour ses attentions toujours agréables, sa gentillesse, sa disponibilité, pour sa présence à mes côtés pendant un an.

A Cécile (et Donuts), Séverine, tous(tes) les autres, et plus encore, Mrou à tous ☺

A Julien pour sa présence dans les moments difficiles

A Amélie et David pour m'avoir fait découvrir les bonheurs quotidiens de la colocation...

To Teemu, Ann and many others for the Lincoln year.

A Peter, pour ne pas oublier...

A Christophe pour son soutien, son humour et son amour au quotidien.

Au professeur Dominique-Pierre PICAUVET pour son soutien et sa confiance durant mon année à l'étranger. Qu'il me soit permis ici de le remercier chaleureusement.

A Mr Jean-Luc PINGRET, Mlle Anne GEFRE, Dr Armelle DIQUELOU, Mr Pierre SANS pour leurs renseignements précieux et utiles pendant la rédaction de ma thèse.

A mes chats Babouche et Caruki, puisse le sujet de cette thèse ne jamais vous concerner. Pour leur soutien muet et félin de chaque instant.

A Hercule grâce à qui j'ai ausculté mon premier thrill cardiaque.

A Délie la nouvelle venue.

TABLE DES MATIERES

PARTIE I : INTRODUCTION	10
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES CALICIVIRUS FELINS	11
<i>Taxonomie et propriétés générales</i>	11
<i>Propriétés physicochimiques</i>	12
<i>Modes de transmission</i>	12
<i>Pouvoir pathogène et signes cliniques</i>	13
<i>Conséquences de la réponse immunitaire de l'hôte contre le FCV.....</i>	15
<i>Méthodes de détection virale</i>	16
<i>Prophylaxie médicale et sanitaire</i>	16
<i>Traitements.....</i>	18
CHAPITRE 2 : PRECEDENTES EPIZOOTIES IMPLIQUANT UN CALICIVIRUS FELIN HYPERVIRULENT	19
<i>Résumé des foyers majeurs</i>	19
<i>Les signes cliniques.....</i>	27
<i>Pathogénie et réponse immunitaire</i>	28
<i>Les raisons de l'émergence des VS-FCV</i>	29
PARTIE II : ETUDE RETROSPECTIVE DE L'EPIZOOTIE TOULOUSAINE	30
A) MATERIELS ET METHODE	30
B) RESULTATS	31
1) <i>Descriptions cliniques des cas.....</i>	31
Cas n° 1 : LOLITA.....	31
Cas n°2 : PHENIX.....	32
Cas n°3 : REGLISSE	33
Cas n° 4 : CHOUCHOU	33
Cas n°5 : BOOGIE	34
Cas n°6 : BOULETTE	35
Cas n°7 : JUNIOR.....	36
Cas n°8 : LEO.....	37
2) <i>Bilan clinique</i>	39
a) Enseignements des précédentes épizooties	39
b) L'épizootie toulousaine :	40
3) <i>Analyses virologiques.....</i>	43
4) <i>Désinfection et prophylaxie mise en place.....</i>	45
PARTIES III : DISCUSSION	46
PARTIE IV : CONCLUSION	52
ANNEXES	54
ANNEXE 1 : RESULTATS BIOCHIMIQUES	55
ANNEXE 1BIS : RESULTATS HEMATOLOGIQUES	56
ANNEXE 2 : RESULTATS DES AUTOPSIES	57
ANNEXE 3 : TRAITEMENTS MIS EN PLACE	59

ANNEXE 4 : TABLEAU GENERAL DE DESINFECTION DES HOPITAUX DE L'ENVT	60
ANNEXE 4BIS : FICHE TECHNIQUE DU	61
DESOGERME VIREX®	61
ANNEXE 5 : ILLUSTRATION GRAPHIQUE DES RT-PCRS	62
ANNEXES 6 : MATERIEL ET METHODES EMPLOYEES POUR TOUTES LES ANALYSES CLINIQUES EFFECTUEES	63
ANNEXE 6A : VIROLOGIE	63
ANNEXE 6B : ANALYSES BIOCHIMIQUES, SANGUINES ET URINAIRES	65
ANNEXE 6C : ANALYSES CYTOLOGIQUES DES EPANCHEMENTS	68
ANNEXE 6D : AUTOPSIES	70
ANNEXE 6E : PRELEVEMENTS HISTO-PATHOLOGIQUES	72
BIBLIOGRAPHIE	74

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Schéma 1: Chronologie des cas de l'épizootie de calicivirose hypervirulente féline	38
Schéma 2: Contamination des différents cas.....	Erreur ! Signet non défini.
Schéma 3 : Plan de la clinique et des hôpitaux de l'ENVT et les mouvements de personnel entre les deux	43
Tableau 1: Bilan clinique des précédentes épizooties.....	39
Tableau 2: Bilan clinique de l'épizootie toulousaine	40
Tableau 3: Résultats des analyses des échantillons pour la recherche de FCV	44

LISTE DES ABREVIATIONS

ENVT :	Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
FCV :	<i>Feline Calicivirus</i> = Calicivirus Félin
VS-FCV :	Virulent Systemic FCV = calicivirus félin systémique hypervirulent
PCR :	<i>Polymerase Chain Reaction</i> = Réaction de Polymérisation en Chaîne
RT-PCR :	Reverse Transcriptase PCR
ARN :	Acide RiboNucléique
RT/Taq :	Mélange d'enzymes contenant de la Reverse Transcriptase et de la Taq
Capseq :	Nom d'une amorce pour le FCV
Taq :	Taq polyméras
dNTP :	désoxyribonucléotides (A, T, C, G) utilisés en PCR
EDTA :	Ethylène-Diamine-TétraAcétique
PAL :	Phosphatase ALcaline
ALAT :	Alanine Amino-Transferase
ASAT :	Aspartate Amino-Transférase
Gamma GT :	Gamma Glutamyl Transpeptidase
CK :	Créatine Kinase
TQ :	Temps de Quick
TCA :	Temps de Céphaline avec Activateur
IV :	Intraveineuse
PO :	Per Os
SC :	Sous Cutanée
IM :	Intra Musculaire
NaCl :	Chlorure de Sodium
BAV :	Bloc Auriculo- Ventriculaire
FeLV :	<i>Feline Leukemia Virus</i>
FIV :	<i>Feline Immunodeficiency Virus</i>

PARTIE I : INTRODUCTION

Depuis 1998, plusieurs épizooties ont été constatées, impliquant un calicivirus félin hypervirulent. Jusqu'à présent, ces foyers épizootiques ont été observés aux Etats Unis et en Angleterre, mais rien n'avait été rapporté en France avant 2005. Cependant, une épizootie de ce type a été identifiée sur le site de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre Février et Avril 2005. En effet, huit cas de chats infectés ont été rapportés durant cette période. Suite à cela, des analyses plus poussées de cette épizootie ont été lancées pour permettre de mieux comprendre les mécanismes pouvant conduire à l'apparition de ce genre de foyers. Une étude rétrospective des dossiers cliniques des cas concernés a donc été entamée, en parallèle d'une enquête téléphonique visant à déterminer d'éventuels cas « non répertoriés ». Toutes ces analyses ont eu pour but de confirmer le rôle d'un calicivirus hypervirulent en premier lieu, mais également de situer cette épizootie par rapport aux précédentes survenues dans d'autres pays.

Nous verrons d'abord les données concernant les calicivirus félins et les précédentes épizooties pour ensuite se concentrer sur les données concernant le foyer toulousain. Enfin nous discuterons les résultats et les méthodes employées durant cette « crise » pour permettre de trouver les méthodes les plus efficaces et faciles à mettre en œuvre face à ce genre d'événement.

Chapitre 1 : Généralités sur les calicivirus félines

Taxonomie et propriétés générales

Les calicivirus félines (FCV) sont des agents pathogènes hautement contagieux et largement présents dans la population féline. Ils appartiennent au genre *Vesivirus* de la famille des *Caliciviridae*. Le génome du FCV est constitué d'un simple brin d'ARN positif d'environ 8 kb, ce qui implique un potentiel d'évolution et de mutation rapide. Ce génome est contenu dans une capsidie formée de multiples copies de la protéine majeure de capsidie VP60. La surface de cette protéine de capsidie est de nature hypervariable, et est également le support de la réponse immunitaire de l'hôte. Malgré cette variabilité, il y a suffisamment de points communs entre les différents isolats de FCV pour permettre une classification des virus comme appartenant au même sérotype. Cependant, des différences antigéniques existent entre les principaux isolats de FCV ce qui rend difficile l'optimisation de la mise au point de vaccins. Enfin, il faut noter que, comme les autres *Vesivirus*, le FCV se multiplie très bien en culture de cellules au laboratoire [6,10,12,13].

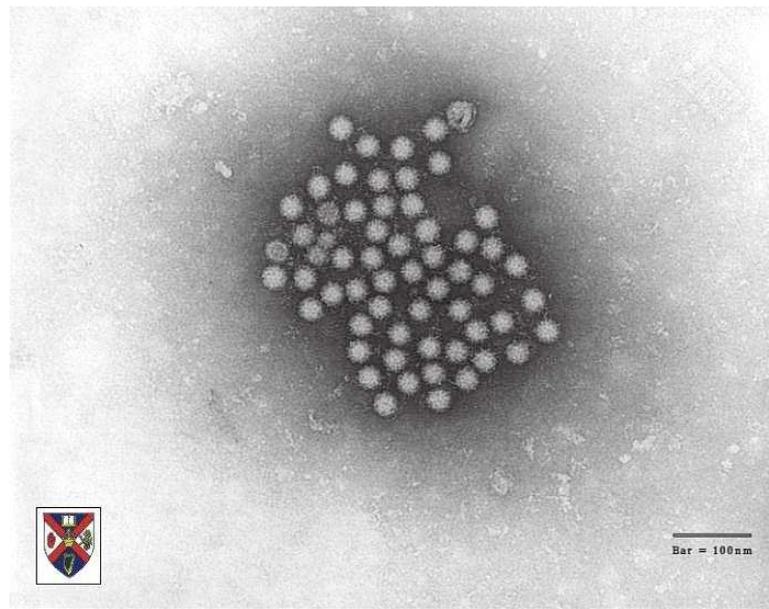


Image en microscopie électronique de *Caliciviridae*.

Source : EM from Stewart McNulty, Queens University, Belfast via www.virology.net

Propriétés physicochimiques

Les calicivirus sont instables à des pH inférieurs à 3, mais ceci reste variable à des pH entre 3 et 5. En revanche, ils sont stables à des pH supérieurs à 5. Ils sont inactivés par chauffage à 50°C pendant 30 min. La dose d'UV (ultraviolet) nécessaire à l'inactivation des calicivirus est proche de celle des autres virus à ARN simple brin. 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/cm².

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 [2, 7]. Dans des conditions d'absence de désinfection efficace, les FCV peuvent persister dans l'environnement à température ambiante (20°C) plus de 25 jours.

Modes de transmission

Les FCV n'ont pas de réservoirs importants ou d'hôtes intermédiaires identifiés à ce jour. 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 [21]. Les FCV se transmettent horizontalement et il n'y a aucune preuve de transmission verticale de la mère aux chatons durant la gestation. Cependant il semble qu'il y ait une plus grande prévalence de porteurs chez les chatons. Ceci soulèverait l'hypothèse que certains individus arrivent à se débarrasser du virus au cours du temps [21].

Pendant les affections aiguës à calicivirus félin, le virus est excrété essentiellement dans les sécrétions des cavités nasales et orales. Cependant, un portage pendant la phase de convalescence est un fait largement identifié et joue un rôle primordial dans l'épidémiologie de l'infection par FCV.

L'infection par le calicivirus félin est largement répandue dans la population féline [21], souvent responsable du « coryza du chat ». La prévalence est proportionnelle au nombre de chats présents dans un foyer donné. La contamination, quant à elle, a lieu généralement par contact direct avec des sécrétions (orales et nasales) provenant de chats porteurs ou en phase aiguë d'infection. Cependant, le virus peut également persister dans l'environnement et rester infectieux pendant un mois s'il est présent sur des surfaces sèches et à température ambiante, et plus longtemps dans des conditions climatiques plus froides. Une transmission indirecte peut également être mise en évidence dans des chatteries où les sécrétions peuvent contaminer les cages, les gamelles, les brosses ou encore par le biais du personnel [19]. Néanmoins, le contact direct entre des porteurs du virus reste probablement le mode de contamination majoritaire.

Pouvoir pathogène et signes cliniques

Les chats peuvent être infectés par les voies nasales, orales ou conjonctivales. L'oropharynx est le site primaire de réplication virale. Le virus induit une nécrose des cellules épithéliales ce qui entraîne la formation de vésicules (sur les bords de la langue le plus souvent) qui vont évoluer vers des ulcères. Leur guérison peut mettre deux à trois semaines. De façon moins fréquente, de la pneumonie et des boiteries peuvent être observées [15, 22]. Les 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. Des études menées par l'université de Californie en 1983 [22] 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 présenta d'éternuements, ni d'écoulement oculaires, un tiers présenta des ulcères oraux, l'un des signes cliniques classique 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.

Les signes cliniques les plus fréquents sont observés lors d'affection aiguë. Ceux-ci se manifestent par une atteinte, de gravité moyenne, de l'appareil respiratoire supérieur et de la cavité orale (ulcères de la langue typiquement). Les symptômes respiratoires aigus sont plus souvent observés sur des chatons. L'incubation dure de 2 à 10 jours et les signes principaux sont des ulcérations de la cavité orale, des éternuements et un jetage nasal. De la fièvre est également notée. De l'anorexie ainsi que de l'hypersalivation, dus à la présence d'ulcères, sont souvent prédominants sur les symptômes respiratoires. Ces signes disparaissent en général en quelques jours. Il peut arriver, notamment chez de jeunes chatons d'observer des symptômes respiratoires plus sévères avec dyspnée, toux, fièvre, et abattement. [10]

En 1994, les tissus articulaires de certains des chats présentant des boiteries ont été observés en microscopie électronique et la présence de processus inflammatoires aigus ont pu être mis en évidence [15].

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. Ces dernières pouvant être isolées ou associées à d'autres signes cliniques tels que de l'hyperthermie, de la dyspnée ou des ulcérations orales. 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 les virus isolés étaient de type sauvage (souche de terrain) mais parfois ils étaient très proches voire identiques aux souches vaccinales.

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 pouvant s'étendre de l'arthrite inapparente, à des boiteries légères pour finir par des polyarthrites sévères avec absence de locomotion.

Un portage chronique est également possible et joue un rôle important dans l'épidémiologie des FCV. Suite à une affection aiguë des voies respiratoires hautes ou de façon indépendante, certains chats peuvent développer une infection persistante de l'oropharynx. Ces infections peuvent s'exprimer cliniquement d'une manière extrêmement légère voire 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. Ce portage est évalué à une durée d'environ 30 jours post infection, au moins. Néanmoins, quelques chats restent excréteurs à vie. Les porteurs sains sont délicats à identifier parmi la population féline car ils sont asymptomatiques. Une étude menée sur les porteurs sains [20] tend à prouver qu'il existe plusieurs niveaux d'excrétion virale d'un individu à un autre. Ceux-ci peuvent être classés en trois catégories : haut, moyen ou bas niveau d'excrétion. La détection des porteurs asymptomatiques s'effectue au moyen d'écouvillon oropharyngés, de façon fiable. En effet, les prélèvements autres, tels que les urines, le sang ou encore des écouvillons conjonctivaux sont négatifs. De façon aléatoire les fécès peuvent être positifs. Des résultats faux négatif peuvent être observés chez les excréteurs viraux de bas niveau, ceux-ci fluctuant en général au dessus et en dessous du seuil de détection de la méthode de détection virale employée (culture cellulaire). C'est pourquoi, lors d'une recherche de porteurs sains en pratique, une série de prélèvements est préférable à un prélèvement isolé. Aucun schéma excrétoire n'a pu être identifié durant cette étude et l'excrétion ne semble pas influencée par des « stress » divers subis par l'organisme [20].

Le complexe gingivo-stomatite chronique féline se caractérise par une expression clinique et lésionnelle variée. On associe à cette dénomination les gingivites, parodontites, palato-glossites 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 lympho-plasmocytaire ») a été l'objet de nombreuses études [23, 26]. 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. Certaines études suggèrent que le FCV jouerait un rôle de cofacteurs dans le cas de stomatite chronique. C'est en cas de stomatite aiguë que le FCV interviendrait de façon majoritaire.

Le FCV peut également être isolé chez la plupart des chats ayant une stomatite chronique. Il a été suggéré un mécanisme impliquant une réponse à médiation immune au FCV mais qui n'a pas pu être reproduit de façon expérimentale.

Depuis plusieurs années, une affection systémique à calicivirus a été observée. Celle-ci présente les caractéristiques communes aux FCV. Cependant, elle se différencie considérablement des affections « classiques » décrites précédemment. Elle présente évidemment les caractéristiques de bases d'une infection par un FCV mais des symptômes plus graves se surajoutent à ceux décrits précédemment. Ces souches impliquent une vasculite généralisée et affectent également plusieurs organes. Le déterminisme du pouvoir pathogène du VS-FCV (Virulent systemic Feline Calicivirus) est encore mal connu et pourrait impliquer une évolution virale particulière, ou bien des composantes immunitaires, ainsi que des facteurs environnementaux.

Conséquences de la réponse immunitaire de l'hôte contre le FCV

Une étude sur les sites de portage de FCV démontre la présence de réplication virale à la surface de l'épithélium des amygdales lors de portage chronique. Dans une moindre mesure, également sur les muqueuses pharyngées et linguales. Cependant, il existe sans aucun doute d'autres lieux de réplication virale puisqu'une amygdalectomie ne permet pas d'éliminer le statut de porteur. Même les chats porteurs asymptomatiques possèdent des anticorps dirigés contre le FCV [17].

La réponse immunitaire qui a lieu au niveau des amygdales contribue à la dérive antigénique des FCV. En effet, le FCV peut présenter plusieurs formes antigéniques différentes après la réplication virale dans l'hôte, ceci pouvant contribuer à l'apparition d'un portage chronique. Le pic de la réponse immunitaire ayant lieu environ 4 à 6 semaine après l'infection, ceci augmente alors à ce moment là la pression antigénique exercée sur le virus, ce qui augmente la probabilité d'émergence de mutants. Suite à

cela, une seconde réponse immunitaire se mettrait en place contre ces nouveaux variants viraux, ce qui entrainerait une nouvelle pression antigénique d'où l'apparition d'une seconde population antigéniquement variable. Ce schéma n'a pas lieu dans tous les cas d'infections chroniques mais permet d'expliquer que la majorité des chats porteurs présentent une souche virale différente de celle qui les a infecté au départ. Ces nouveaux variants peuvent être isolés relativement tôt après l'infection (35 jours environ). Cependant des mutations peuvent également survenir aux alentours du 130^{ème} jour après l'infection [18].

Dans tous les cas, cette dérive antigénique des FCV au cours du temps contribue largement à favoriser l'apparition du statut de porteur chronique.

Méthodes de détection virale

En routine, la RT-PCR nichée en temps réel a été développée pour détecter l'ARN du FCV à partir d'écouvillons conjonctivaux, oraux, du sang, des raclages cutanés ou du tissu pulmonaire, en fonction de la forme clinique observée. La sensibilité du diagnostic dépend des amorces employées et de la souche à détecter. La PCR est un bon moyen pour diagnostiquer une infection à FCV mais également pour identifier la souche impliquée.

L'isolement viral est une autre méthode pour détecter la présence de FCV et est moins soumise aux problèmes de variations antigéniques que la RT-PCR. Le virus peut être isolé d'écouvillons oraux, nasaux, conjonctivaux ou oro-pharyngés. Mais une préférence pour ces derniers doit être signalé, du fait de la grande affinité du virus pour la sphère oro-pharyngée [17]. Il se multiplie rapidement sur des cellules félines et est détecté grâce à ses effets cytopathiques. Néanmoins, l'isolement viral peut échouer à cause d'un nombre insuffisant de virions dans le prélèvement, ou de leur inactivation durant le transport.

Prophylaxie médicale et sanitaire

La vaccination contre les FCV fait partie des vaccinations de routines chez les chats. Elle consiste en deux injections de primo-vaccination espacées de trois semaines et ensuite à un rappel annuel.

La vaccination contre les FCV a débuté à grande échelle à la fin des années 1970. Les premiers vaccins utilisés étaient des vaccins à virus vivants atténués issus de la souche F9 isolée aux Etats-Unis [16] 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 ».

Ensuite sont apparus des vaccins à virus inactivés. La plupart de ces vaccins furent élaborés à partir des souches 255 et 2280. L'inactivation est habituellement réalisée par traitement chimique. Les principaux agents chimiques utilisés sont : la formaline, le formaldéhyde, la β -propiolactone, en présence ou non de traitement thermique. 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. Les vaccins adjuvés ne sont pas exempts de défauts, ils induisent un taux bien plus important de réactions locales défavorables, ce qui pourraient avoir une influence sur le risque d'apparition d'un fibrosarcome vaccino-induit au niveau du site d'injection.

La vaccination ne protège pas d'un éventuel portage chronique et la variation antigénique subit par le virus après la vaccination montre que les souches isolées dans la sphère orale 5 à 10 semaines après la vaccination sont plus résistantes que la souche vaccinale à l'action des anticorps neutralisants [25].

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, 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 [24].

Enfin, les différentes épizooties à VS-FCV qui ont frappé les Etats-Unis, ont montré que la vaccination classique contre les calicivirus félins 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.

Concernant la prophylaxie sanitaire, le désinfectant de choix retenu à plusieurs reprises dans la littérature est l'eau de javel à 5 % dilué au 1/32^{ème}. Les ammoniums quaternaires et produits phénolés, habituellement utilisés en contexte hospitalier vétérinaire ne montrent aucune efficacité notable contre les FCV [7, 14]. Il faut considérer les trois modes de contaminations possibles pour mettre en place une prophylaxie efficace, c'est-à-dire directe, indirecte et l'existence de porteurs sains. Dans des environnements stables, un isolement des nouveaux animaux entrant de 3-4 semaines est préconisé mais est difficilement réalisable dans des environnements plus instables avec beaucoup de circulation animale, comme les cliniques vétérinaires. Il est également trivial mais important de rappeler qu'un environnement sain et propre est la première barrière à de tels problèmes : une température ambiante stable, un faible taux d'humidité avec une ventilation adéquate. Si un chat est confirmé contaminé, on peut dans un environnement comme une clinique vétérinaire, prendre des dispositions avec le propriétaire pour favoriser les soins à domicile et éviter la contamination de cette « plaque tournante » de la contamination

qu'est une clinique vétérinaire. Il est également important de sensibiliser les propriétaires aux différents moyens de contamination pour éviter le vagabondage de leurs animaux et sur l'importance d'un protocole vaccinal en raisonnant à l'échelle de la population [19].

Traitements

Les chats atteints par le FCV nécessitent un nursing intensif ainsi qu'un traitement symptomatique. Chez les chats les plus sévèrement atteints, la correction de la déshydratation et la restauration de l'équilibre électrolytique grâce à une perfusion est préconisée. La reprise de l'alimentation est très importante. Souvent la fièvre, les ulcères et la perte d'odorat dus à la congestion nasale sont responsables de cette perte d'appétit. Si l'anorexie persiste plus de trois jours, la mise en place d'une sonde gastrique est recommandée. Des antibiotiques peuvent être administrés aux animaux sévèrement touchés, suspectés d'être atteints d'une surinfection bactérienne. Des antibiotiques à bonne pénétration de l'appareil respiratoire et à large spectre sont à favoriser (amoxicilline, VO, 22 mg/kg/12h et doxycycline, VO, 12mg/kg/24h par exemple). En cas de jetage nasal, celui-ci peut être nettoyé plusieurs fois par jour grâce à du sérum physiologique [10].

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.

Concernant le VS-FCV, le traitement reprend les bases d'une affection classique à calicivirus. Les chats gravement touchés peuvent être traités par des soins intensifs et symptomatiques (fluidothérapie, antibiotiques large spectre), ainsi que des stéroïdes et des interférons. Cependant, le recul concernant l'emploi d'interférons n'est pas encore suffisant pour préjuger de leur effet positif. Pour les cas respiratoires les plus sévères, une oxygénothérapie et une humidification des voies respiratoires peuvent être mises en place. Une amélioration clinique n'est rapportée que de façon anecdotique. Cependant aucun traitement spécifique n'est encore connu.

Chapitre 2 : Précédentes épizooties impliquant un calicivirus félin hypervirulent

Résumé des foyers majeurs

A ce jour, plus d'une demi-douzaine de crises dues à des VS-FCV (virulent strain FCV) ont pu être décrites. Toutes les crises n'ont pas fait l'objet de recherches approfondies concernant l'agent pathogène, mais parmi les souches hypervirulentes les plus étudiées se trouvent celles responsables des épizooties du nord et du sud de la Californie ainsi que celles du Massachussets [1, 2].

En 1998, aux Etats-Unis, au nord de la Californie, fut décrite la première épizootie causée par un FCV hypervirulent. A cette occasion, sept chats ont été atteints. 28% des chats infectés sont décédés. [1]

Le premier cas, considéré comme le point de départ probable de cette épizootie de VS-FCV était 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. Par la suite, 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. Malheureusement, le chaton présenta une intussusception une semaine plus tard et mourut.

Le second cas identifié était une femelle stérilisée de 6 ans nommée Ria. C'était une chatte vivant strictement à l'intérieur, et appartenant à un aide vétérinaire de la clinique concernée. 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 abattement, accompagné de fièvre et d'anorexie. L'examen clinique ne mit en exergue aucune anomalie hormis l'hyperthermie. Des tests FIV et 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 situées sur la partie droite du nez 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. Cependant, le 14 octobre 1998, elle fut ramenée à la clinique car elle ne montrait aucun signe d'amélioration. De nouvelles lésions ont été notées à cette occasion : des croûtes, de l'érythème et des dépilations 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, accompagné d'une vascularite sous-jacente. La culture bactérienne ne donna aucun résultat et aucun organisme infectieux ne fut décelé sur les lames réalisées. Ria fut traitée avec de la prednisolone et des antibiotiques ; les deux jours qui suivirent elle mangea bien et avait repris son activité de toilettage. L'œdème cutané se résorba et les lésions cutanées ont progressivement cicatrisé.

Le troisième chat affecté était un jeune chat mâle de 4 mois nommé Indy, qui vivait en intérieur mais ayant accès à l'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 abattement et fièvre. Les analyses biochimiques révélèrent une légère augmentation de la créatinine phosphokinase (CPK) et de la bilirubine totale. Les tests FIV et FeIV 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 sans évènement notable.

Le quatrième chat, Garth, était un chat mâle castré de 5 ans qui vivait en intérieur avec accès à l'extérieur et vivant dans le même foyer que le chat précédent (Indy). Ce chat avait son protocole vaccinal à jour. 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 plages d'alopécie 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 du fils de Ria, second cas de ce foyer épizootique. Ari était jusqu'alors en bonne santé, bien vacciné et testé négatif contre le FIV et le FeIV. Il a été présenté à la clinique le 18 octobre 1998 car il présentait depuis deux jours une forte léthargie apparue subitement ainsi qu'une anorexie concomitante. Une légère boiterie de l'antérieur droit a été notée par les propriétaires deux jours auparavant mais elle rétrocéda 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 présenté de nouveau 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 également des lésions croûteuses et érythémateuses. Une fluidothérapie fut mise en place, de même qu'un traitement antiémétique à base

de métoprolole associé à une antibiothérapie à large spectre. Le 22 octobre, Ari était dans un état constant, sans fièvre et présentait toujours une anorexie. L'œdème facial s'accroissait légèrement mais les zones ulcérées semblaient moins exsudatives. Le membre antérieur droit devint lui aussi légèrement œdématié. Le 23 octobre son état était stationnaire. 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 signes 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 identifié comme la souche « FCV-Ari ». Le 24 octobre, Ari était toujours normotherme mais restait anorexique, et l'œdème facial s'était fortement accru. 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 pallier l'anorexie d'Ari. Il sembla plus réactif le 25 octobre mais restait toujours anorexique et présentait 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 ainsi qu'une légère dyspnée. Le taux d'hématocrite diminua, l'hypoprotéinémie s'accroissait et le temps de céphaline activé (TCA) s'allongea. Une seconde transfusion de sang total lui fut administrée. 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 d'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 qu'Ian était fébrile et qu'il manifestait des signes similaires à ceux présentés par sa mère quelques jours auparavant. Il était correctement vacciné et avait été testé négatif pour le FeIV et le FIV au mois d'août de cette même année. Ian était abattu et éternuait occasionnellement. L'examen clinique mit en évidence un léger œdème 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, l'an était toujours fébrile mais s'alimentait toujours. L'œdème facial et le nombre de croûtes s'amplifièrent. Les éternuements persistent et une congestion nasale fut notée. Le 28 octobre l'an éternuait toujours et les lésions faciales étaient devenues coalescentes. Mais son appétit et son état général se sont améliorés jusqu'à rémission complète.

Le septième et dernier 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 le 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 deux jours d'anorexie accompagnée d'abattement. L'examen clinique mit en évidence une hyperthermie, une déshydratation modérée et une certaine tension à la palpation abdominale. L'animal fut hospitalisé. 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 furent négatifs. Le 5 novembre, Emma était abattue, anorexique, fébrile et hyperirritable. L'hyperthermie s'accrut dans la soirée et son membre postérieur gauche apparut oedémateux. Le lendemain des oedèmes ont été notés sur le nez et des plaques d'ecchymose sont apparues sur l'abdomen. 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 abattue que la veille. Ses examens révélèrent en plus une diminution du taux d'hématocrite et de la concentration en protéines plasmatiques. Un traitement ayant pour but de contrer l'installation de cette hypoprotéinémie et la probable CIVD fut mis en place, à savoir : perfusion de colloïdaux, héparine en sous-cutané, antibiothérapie intraveineuse et maintien de l'alimentation assistée. La fièvre tomba mais la dyspnée s'accrut. Une thoracocentèse fut menée mais ne permit la récolte que de très peu de liquide d'épanchement. Son état général se dégradait et sa dyspnée s'accrut conduisant à une hypothermie. Le 8 novembre, les résultats sanguins décelèrent une thrombopénie et un allongement du temps de céphaline activé (TCA). Un traitement à base de furosémide et de dobutamine fut tenté mais la détresse respiratoire s'accrut ce qui conduisit les propriétaires à demander l'euthanasie.

La souche de FCV responsable de ce foyer épizootique se propagea par la voie des sécrétions biologiques en dépit de la mise en place de mesures de désinfection et de prophylaxie rigoureuses. Une contamination indirecte par le biais du personnel a également été observée (certains des chats atteints étaient ceux d'assistants vétérinaires travaillant à la clinique). Le tableau clinique était dominé par un état fébrile avec une anorexie associée à une dermatite faciale ulcérate (oreilles, bouche et pourtour des yeux) et des œdèmes cutanés diffus (sur la face et les membres essentiellement). Une hyperbilirubinémie, une augmentation du temps de Quick (TQ) et de Céphaline avec activateur (TCA) et une hypoprotéinémie ont également été relevés.

La souche responsable de cette crise fut isolée et nommée FCV-Ari. La contamination expérimentale de chats SPF (specific pathogen free) avec FCV-Ari permet de recréer la même maladie que suite à une infection naturelle. Une infection accidentelle a également eu lieu sur des chats présents pour une tout autre raison sur le site. [1].

En 2001, dans le Massachussetts cette fois ci, un nouveau foyer épizootique dans une clinique vétérinaire a été rapporté. Au total, 24 chats ont été infectés et l'épizootie dura deux semaines. Le taux de létalité a été de 37,5 % (9 chats sur 24). Les premiers cas apparurent entre le 13 et 19 Mars 2001 [14].

Les symptômes les plus récurrents étaient de la fièvre, de l'anorexie, la présence d'ulcères de la cavité orale, des œdèmes de la face et des membres. De façon plus sporadique, certains cas ont présenté un épanchement abdominal et un ictère. Les analyses sanguines ont révélé une hyperbilirubinémie et une hypoprotéinémie. Le résultat histopathologique le plus prépondérant est le constat d'une sévère pancréatite. Le poumon présentait des lésions de pneumonie interstitielle suraiguë. Les ulcères cutanés montrèrent suite à des analyses histologiques des lésions de dermatite nécrosante avec vascularite et thrombose. Le foie montrait des lésions de congestion chronique passive et de nécrose.

Face à l'ampleur de l'épidémie, 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. A ce moment là de l'épidémie, aucun agent pathogène n'a encore été isolé, mais un agent viral est fortement suspecté au regard de la fièvre persistante et de la non réponse aux antibiotiques à large spectre. Des mesures de désinfection et de prophylaxie ont été mises en place et de l'eau de Javel à 10% a été retenue comme désinfectant idoine. Une désinfection systématique des surfaces d'examen, des cages et des sols a été effectuée. Des pédiluves ont également été mis en place à l'entrée de la clinique et de la salle d'hospitalisation. [14]. De plus, 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'épizootie. Les clients qui avaient amené leurs animaux en consultation durant la période de l'épizootie, furent contactés, informés et sensibilisés sur les signes cliniques qui pourraient survenir chez leurs animaux. Le 5 avril 2001 (c'est-à-dire 3 semaines après le début de l'épizootie), la nature de l'agent causal a été confirmée, il s'agissait bien d'un FCV, nommé FCV-Diva.

En 2002, un nouveau foyer épizootique a été identifié en Californie du sud et a concerné 3 cliniques vétérinaires différentes sur une durée de 2 mois de Juin à Août 2002. Le taux de mortalité global a été évalué à 41% sur un total de 54 chats concernés [2].

Les quatre premiers chats à être atteints ont été une chatte et ses trois chatons appartenant à un refuge. Ces quatre chats ont été hospitalisés à la première clinique pour y 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 qui apparut fébrile au moment de son retour au refuge. Approximativement une semaine plus tard, les quatre chats sont devenus fébriles, ne voulaient plus se déplacer et présentaient des ulcérations orales. De plus un des chats développa des pustules sur les pavillons auriculaires et des croûtes sur le nez. Ces quatre chats ont ensuite entièrement guéri et n'ont pas pu être 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 première clinique 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 premier groupe de chat. Dans le refuge d'où venaient ces chats, 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 ces chats, n'ont présenté aucun problème de santé.

Il n'y eut aucun mouvement de chats entre les bâtiments de la première clinique 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 dans un second bâtiment de la première clinique 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 (la souche de VS-FCV responsable de cette épizootie).

Durant la semaine qui suivit, douze chats hospitalisés dans le second bâtiment de la première clinique 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^{ème}. 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 première clinique, à l'exception d'un animal. Ce dernier, un chat mâle castré de 14 ans fut hospitalisé dans le second bâtiment 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 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 première clinique 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 virale et séquençage du génome viral.

Les deux premiers chats à être infectés dans la seconde clinique vivaient dans la même maison qu'un des chats précédents. Ces deux chats furent examinés le 26 juin ; ils présentaient de la fièvre et des signes d'affection des voies respiratoires hautes. Les propriétaires de ces chats étaient venus plusieurs fois voir le chat contaminé 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 problème le soir même ; mais huit jours plus tard, il fut conduit à la première clinique. Il présentait une anorexie, des ulcérations orales, un ictère et de l'œdème aux quatre membres. Les propriétaires ont décidé d'euthanasier leur animal.

Ce sont les quatre premiers chats touchés, déjà responsables présumés du départ de l'épizootie, qui propagèrent apparemment celle-ci dans la troisième clinique impliquée. Après avoir été soignés à la première clinique, 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. Les trois chatons ont été admis et traités à la troisième clinique du 1^{er} 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 troisième clinique du 1 au 18 juillet.

Au départ, les vétérinaires ont considéré que ces chatons avaient une infection typique des voies respiratoires. Ils furent isolés dans une pièce de la clinique réservée 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 troisième clinique apprirent l'existence de l'épizootie qui frappa la première clinique. 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 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 put rentrer 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 administrés. Bien que des précautions accrues d'hygiène fussent prises à partir du 6 juillet, six nouvelles infections de chats étant seulement venus en consultation à la troisième clinique furent identifiées. 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. De plus, un jeune chat perdu qui avait été recueilli et gardé dans une cage de la salle d'hospitalisation générale depuis le 4 juillet présentait de petits ulcères oraux et une légère fièvre. FCV Kaos fut isolé et confirmé par séquençage chez ce dernier. Tous les chats qui sont restés hospitalisés ont survécu et sont retournés au refuge. Plus aucune autre infection ne fut notée ensuite à cette clinique.

En 2003, c'est au Royaume Uni qu'une nouvelle épizootie est rapportée, la première européenne. Cinq chats ont été touchés avec un taux de mortalité de 60 %. Les symptômes relevés furent un abattement, de la fièvre, un ictère, des vomissements et de l'anorexie. Un FCV a été mis en évidence par isolement viral et infection expérimentale [3].

Après comparaison génomique et antigénique, les souches isolées de ces différents épisodes se sont avérées distinctes les unes des autres. La fréquence de ces épizooties semble être en augmentation depuis ces dix dernières années.

Néanmoins cette constatation peut être la conséquence logique d'une meilleure reconnaissance de ce type de crise depuis la description de la première en 1998. A partir des épizooties citées, certains critères ont pu être identifiés pour faciliter l'identification de nouveaux foyers.

- Les épizooties se déroulent généralement dans le contexte hospitalier des cliniques et hôpitaux vétérinaires.

- 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, présenteraient des signes cliniques amoindris.

- La contamination se déroule très vraisemblablement de façon indirecte 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, de façon aussi inexplicable qu'elles sont apparues, en une durée approximative de deux mois.

Les signes cliniques

La durée d'incubation peut être estimée de 1 à 5 jours. Elle peut s'allonger à 12 jours en dehors d'un environnement hospitalier.

Parmi les signes cliniques les plus spécifiques et fréquemment observés suite à une infection par un FCV hypervirulent, on notera :

- De la fièvre (souvent > 40.6 °C)
- De l'œdème cutané (face et membres)
- Des croûtes
- Des ulcérations (en région péri oculaire et dans la cavité orale)
- Un ictère
- Une conjonctivite



Ulcères de la cavité buccale chez un chat atteint de calicivirus

Source : <http://kikivet.over-blog.com/archive-7-2006.html>

Des signes moins fréquents :

- Vomissements
 - Diarrhée
 - Alopécie
 - Épanchements abdominaux et thoraciques
 - Eternuements
 - Jetage nasal et oculaire
- Forme plus sévère que pendant une atteinte par le FCV « classique »



Œdème de la face avec jetage oculo-nasal purulent et croûtes chez un chat atteint de calicivirus

Source : <http://kikivet.over-blog.com/archive-7-2006.html>

Des symptômes rares :

- Hémorragies
- CIVD

Des modifications des paramètres biochimiques et sanguins :

- Hyperbillirubinémie
- Hypoprotéinémie
- Hypoalbuminémie
- Augmentation du TQ et du TCA
- Augmentation des créatinephosphokinases (CPK)
- Augmentation des ASAT et des ALAT
- Lymphopénie

Les analyses histo-pathologiques et anatomo-pathologiques ne permettent pas de mettre en avant des signes pathognomoniques d'une atteinte par une FCV hypervirulent.

Pathogénie et réponse immunitaire

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.

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 2006 [4] a consisté à rechercher la contribution du système immunitaire dans la pathogénie des VS-FCV et dans cette optique, la quantité et la nature des cytokines présentes dans les tissus lésés lors d'une infection par un VS-FCV ont été évaluées. Les trois principales cytokines identifiées sont : MIP-1 α , IL-10 et TNF- α . MIP-1 α 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- γ . 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- α , 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 aiguë, d'induire une activation du complément et de générer de la fièvre et un choc. Bien qu'on ne puisse pas à partir de ces constats relier directement les lésions histo-pathologiques observées aux taux élevés de cytokine, ces résultats suggèrent cependant une contribution immuno-pathogénique 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.

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'ombre persistent, mais plusieurs hypothèses sont avancées.

Une des hypothèses proposée est l'émergence d'un nouveau génotype de FCV, responsable d'un phénotype hypervirulent, associé à ces épizooties. La haute mutabilité des Calicivirus va dans ce sens.

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 telles qu'une vasculite entraînant des œdèmes. L'interaction initiale entre le virus et l'hôte pourrait initier une conséquence immune commune même si le génotype viral est différent.

PARTIE II : ETUDE RETROSPECTIVE DE L'ÉPIZOOTIE TOULOUSAINÉ

Le foyer épizootique de Toulouse a touché huit chats au total durant une période allant du 26 Février 2005 au 30 Mars 2005 (un mois). Son apparition a été soudaine et inexplicable. Sa résolution l'a été tout autant.

A) Matériels et méthode

Pour être sûre d'avoir d'identifié tous les cas de cette épizootie, je me suis chargée de la collecte des données qui a été effectuée par l'examen des dossiers médicaux. Ces derniers ont été revus dans le détail pour réunir toutes les données cliniques et analytiques, permettant ainsi une étude transversale des huit cas recensés. De plus, j'ai également mené des entretiens téléphoniques auprès des personnes concernées par l'épizootie. Une liste des tous les propriétaires de chats ayant amené leur animal, quelle que soit la raison, dans les locaux de la clinique des petits animaux de l'ENVT a été imprimée grâce aux données du logiciel Clovis® utilisé à l'ENVT comme base de donnée clientèle. Cela a été la liste utilisée pour contacter les propriétaires. L'interrogatoire consistait à leur demander si leur chat avait été malade ou avait présenté quoique ce soit d'inhabituel depuis son dernier passage à l'ENVT. Les mêmes questions ont été posées à tous les étudiants et le personnel ayant travaillé dans les locaux de la clinique durant la période à risque et possédant des chats. Au total, plus de 700 personnes ont été contactées pendant les mois de Mai et Juin 2005. Aucune personne n'a rapporté un problème quelconque concernant leur chat.

B) Résultats

1) Descriptions cliniques des cas

Cas n° 1 : LOLITA

Le 04/03/05, Lolita, une chatte stérilisée de 2 ans, vivant avec un autre chat, Stuart, a été référée aux cliniques des petits animaux de l'ENVT.

Elle avait auparavant été amenée en consultation chez son vétérinaire traitant le 28/02/05. Elle était alors déshydratée et présentait un œdème des paupières. Elle a alors été hospitalisée et mise sous perfusion de Ringer Lactate. Le 01/03/05, les œdèmes s'étaient étendus à toute la face et aux membres antérieurs.

Lors de la consultation à l'ENVT le 04/03/05, Lolita présentait toujours des œdèmes de la face et des membres antérieurs, un jetage nasal et des éternuements. Sa respiration était discordante, et à l'auscultation les bruits inspiratoires étaient renforcés. L'examen de la cavité buccale mettait en évidence des ulcères sur le bout de la langue et les babines, une gingivite ainsi qu'une hypersalivation. Les urines prélevées par cystocentèse avaient une couleur jaune très soutenue. La bandelette urinaire (Combi® Screen 10SL) révélait une bilirubinurie très importante (++++). La réaction de Heller était négative pour les protéines mais indiquait la présence de pigments biliaires (++) . Les analyses biochimiques révélaient une hypoalbuminémie, une hyper bilirubinémie. Une augmentation des ALAT et des Gamma GT était également notée (Annexe 1). Les analyses hématologiques montraient une lymphopénie et une thrombopénie, ainsi qu'une augmentation de la concentration en fibrinogène (Annexe 1bis).

Les radiographies du thorax et de l'abdomen étaient compatibles avec la présence d'épanchements (thoracique et abdominal). Une échographie confirmait l'épanchement abdominal.

Le prélèvement de l'épanchement thoracique a mis en évidence un liquide jaune légèrement trouble classé comme un exsudat non septique. Le prélèvement abdominal, quant à lui, était un liquide d'aspect jaune translucide dont l'analyse a conduit à l'identification d'un transsudat pur.

Lolita a été hospitalisée le 04/03/05, et mise sous perfusion de NaCl 0,9 % ainsi que traitée avec du Clamoxyl et de la morphine (Annexe 3).

Le 05/03/05, le jetage muco-purulent était toujours présent, Lolita était en tachypnée et présentait également une dyspnée expiratoire. Les ulcères s'étaient étendus aux joues, et les œdèmes toujours présents.

Le 06/03/05 les œdèmes se sont aggravés, ainsi que de l'état général de l'animal. Lolita a alors été euthanasiée à la demande de ses propriétaires. Une autopsie a été pratiquée le lendemain (Annexe 2).

La PCR effectuée a posteriori le 05/04/05 sur le plasma prélevé sur héparinate de lithium le 04/03/05 et conservé à -18°C au laboratoire central de la clinique de l'ENVT était **positive** au FCV.

Cas n°2 : PHENIX

Phénix était un chaton de 5 mois de statut vaccinal inconnu. Il avait été opéré à l'ENVT le 14/02/05 suite à une disjonction épiphysaire distale du tibia gauche. Il est rentré chez son propriétaire suite à cette opération.

Cependant, il a été ramené à l'ENVT en consultation d'urgences le 08/03/05 pour une baisse d'appétit et d'entrain. Phénix présentait une hyperthermie à 40.5 °C ainsi qu'un œdème au niveau du site opéré trois semaines auparavant. Suite à cette consultation, Phénix a été mis sous traitement antibiotique (céfalexine) et anti-inflammatoire (acide tolfénamique) (Annexe 3).

Le 09/03/05 Phénix était vu de nouveau à l'ENVT en consultation de médecine. Son état général s'était fortement dégradé depuis la veille. Les urines de Phénix ont été prélevées par cystocentèse. La bandelette urinaire révélait la présence de bilirubine (+++) et de sang (+++). Les analyses biochimiques mettaient en évidence une hypoalbuminémie et une hyperbillirubinémie (Annexe1). Les analyses hématologiques montraient une augmentation du taux de fibrinogène, une lymphopénie et une thrombopénie. De plus les temps de quick et de céphaline avec activateur étaient très fortement augmentés (Annexe 1bis).

Le 10/03/05, une échographie abdominale a été réalisée. Celle-ci indiquait une légère cholestase extrahépatique (canal cholédoque modérément dilaté) et une adénopathie mésentérique généralisée.

Le 11/03/05, l'apparition d'un œdème étendu aux quatre membres était notée. Son état général s'aggravait, malgré les traitements précédemment mis en place, conduisant à l'euthanasie de Phénix le 11/03/05. Aucune autopsie n'a été effectuée.

Du sang total a été prélevé sur EDTA le 09/03/05 et conservé à -18°C au laboratoire Scanelis. La PCR effectuée a posteriori le 1^{er}/04/05 était **positive** au FCV.

Cas n°3 : REGLISSE

Réglisse était un chat mâle castré de 12 ans, non vacciné. Il était vu le 11/03/05 aux consultations de médecine de l'ENVT pour un problème des voies respiratoires supérieures, ayant été référé pour un problème de cornage chronique. Des radiographies des voies aériennes supérieures et du thorax ont été faites et ne montraient aucune anomalie en ce jour. Un rendez vous était alors pris le 18/03/05 pour une endoscopie laryngée.

Le 13/03/05, Réglisse était ramené en urgence à la clinique vétérinaire de garde. Il était alors hyperthermique à 40 °C et anorexique, et a été traité avec des antibiotiques et des anti-inflammatoires (céfalexine à 30 mg/kg et acide tolfénamique).

Le 14/03/05 Réglisse était présenté en consultation d'urgences à l'ENVT, son état ne s'étant pas amélioré. L'examen clinique révélait un léger abattement, un épiphora et un jetage bilatéral séreux. Des étouffements ont été observés pendant la consultation. L'hémogramme effectué le même jour a permis l'observation d'un plasma d'un jaune soutenu, et la détection de la présence de nombreux corps de Heinz dans les hématies (coloration au bleu de Crésyl brillant).

Les analyses biochimiques révélaient une très légère hyperprotéïnémie et une hypercréatininémie modérée (Annexe1). Les analyses hématologiques montraient une augmentation de la concentration en fibrinogène, une lymphopénie et une thrombopénie (Annexe 1bis).

Suite à cette consultation, des inhalations de Pérubore, associées à la Doxycycline ont été proposés comme traitements (Annexe 3).

Le 15/03/05 Réglisse a été hospitalisé chez son vétérinaire traitant, son état général s'étant dégradé. Des œdèmes étaient apparus sur ses membres, et il présentait un ictère. Réglisse est mort le lendemain. Aucune autopsie n'a été effectuée.

Du plasma a été prélevé sur héparinate de lithium le 14 Mars et conservé à -18°C au laboratoire central de la clinique de l'ENVT. La PCR effectuée a posteriori le 05/04/05 était **positive** au FCV.

Cas n° 4 : CHOUCHOU

Chouchou était une chatte européenne stérilisée de 19 ans, non à jour de ses vaccinations. Elle était suivie régulièrement depuis 2001 pour une hyperthyroïdie qui a été résolue grâce à une

thyroïdectomie effectuée en Janvier 2002. Des troubles du rythme cardiaques (BAV III) ont été diagnostiqués en Janvier 2005.

Le 14/03/05 Chouchou était amenée aux consultations d'urgences de l'ENVT pour une boiterie durant depuis 2 jours. Une ancienne rupture du ligament croisé gauche est notée avec une forte suspicion d'ostéochondrose synoviale.

Le 17/03/05, Chouchou était de nouveau présentée aux urgences de l'ENVT pour anorexie et abattement durant depuis 48 heures. Elle présentait une déshydratation de 5%, des muqueuses oculaires subictériques et un jetage nasal bilatéral. Ses analyses biochimiques mettaient en évidence une hyperprotéinémie.

L'examen du frottis sanguin révélait un déplacement de la courbe d'Arneth à droite ainsi qu'une lymphopénie très importante (Annexe 1bis). Chouchou était hospitalisée et mise sous perfusion de NaCl à 0,9 % complémentée avec 20 mmol/L de potassium au débit de 50 mL/kg/jour. Elle était également traitée avec de la morphine (Annexe 3).

Le 18/05/05, elle était abattue et présentait une hypersalivation et une halitose prononcée. L'examen de la cavité buccale révélait la présence de plusieurs ulcères sur la langue (avec nécrose du bout de cette dernière), ainsi qu'un abcès à la commissure des lèvres. Elle avait également une respiration bouche ouverte, un jetage séreux bilatéral, une légère conjonctivite accompagnée d'un épiphora bilatéral. Un traitement à la Rilexine a été ajouté (Annexe 3).

Le 19/03/05 Chouchou était hypothermique à 37,3 °C. Sa dyspnée et ses difficultés respiratoires étaient toujours présentes. Son état général s'était fortement dégradé. Chouchou décédait ce jour et une autopsie a été réalisée le 20/03/05 (Annexe 2).

Immédiatement après la mort de Chouchou, du sang intracardiaque a été prélevé pour réaliser une recherche de calicivirus félin par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR). Le 21/03/05, les résultats de la PCR étaient revenus **positifs** au calicivirus félin.

Cas n°5 : BOOGIE

Boogie était un chat mâle européen de 3 ans. Le 14/03/05, Boogie était référé en consultation chirurgicale à l'ENVT pour une fracture du postérieur gauche datant de plus de 48 heures. Ce même jour, Boogie subissait une intervention comprenant un parage de plaie et la pose d'un fixateur externe et était donc hospitalisé.

Entre le 15 et le 17/03/05, une plage de nécrose est apparue en regard de la plaie chirurgicale.

Le 18/03/05 un œdème du membre opéré est apparu. L'état général était bon. Les plaies ont été traitées avec de l'Urgotulle®. Un traitement à base de Céfalexine, de morphine et de Meloxicam a également été mis en place (Annexe 3).

A partir du 23/03/05 une baisse de l'état général était remarquée. Boogie présentait alors une hyperthermie à 40,3 °C et une anorexie. L'œdème et la nécrose étaient toujours présents. Le soir même était notée une nette amélioration de l'état général avec un retour à la normothermie et une reprise de l'alimentation. Un traitement à base d'acide tolfénamique est mis en place (Annexe 3).

Le matin du 25/03/05 Boogie était de nouveau hyperthermique à 40,4 °C et était dysorexique. La plaie était d'aspect normal et d'évolution correcte.

Le 27/03/05 Boogie présentait un jetage nasal séreux. L'auscultation de l'appareil respiratoire mettait en évidence des bruits surajoutés, ainsi que des sifflements à l'expiration. Il était anorexique et présentait des ulcères sur la langue. Rien de plus n'était signalé au niveau du site opératoire.

Le 28/03/05 le jetage nasal semblait s'intensifier et on notait l'apparition d'un œdème à la patte avant droite, ainsi qu'un léger œdème de la face.

Le 29/03/05 Boogie était **isolé**. Un prélèvement fut fait le jour même.

Les résultats obtenus le 30/03/05 par PCR étaient positifs à un calicivirus félin.

Le 30/03/05 l'examen du frottis sanguin rapportait une courbe d'Arneth à gauche et la présence d'acanthocytes. De plus, une lymphopénie était notée (Annexe 1bis).

Trois inhalations par jour de Pérubore® ainsi que l'administration de Pansoral® avant les repas ont été ajoutés aux traitements déjà mis en place (Annexe 3).

Du 1^{er} au 03/04/05, l'œdème à l'antérieur était toujours présent mais une bonne évolution clinique vers la résorption était observée.

Les symptômes respiratoires, les œdèmes et les ulcères ont régressé puis disparu entre le 1/04/05 et le 11/04/05. L'hospitalisation de Boogie se terminait le 11/04/05.

Il était revu le 24/04/05 pour le retrait de son fixateur externe et son état général était bon.

Cas n°6 : BOULETTE

Boulette est une chatte siamoise d'un an. Elle a été présentée aux consultations d'urgences de l'ENVT le 26/02/05 pour des plaies importantes aux membres, notamment sur le postérieur gauche. En conséquence, Boulette a été hospitalisée à la clinique des petits animaux de l'ENVT à partir du 27/02/05. Le 17/03/05 Boulette subissait une opération de tunnélisation de son postérieur gauche. Rien de particulier n'a été remarqué durant ses examens cliniques jusqu'au 29/03/05.

Le 29/03/05 un œdème du postérieur droit est apparu, ne se résorbant pas suite à l'injection de Dimazon. Le même jour avait lieu le dépistage de FCV sur la totalité des chats hospitalisés à l'ENVT à cette date.

Le 30/03/05 au soir, Boulette montrait une hyperthermie à 40,2 °C et l'œdème présent au postérieur droit était de plus en plus marqué. La PCR réalisée est revenue positive à un calicivirus félin. Ce même jour, les hôpitaux étaient fermés aux chats.

Le 31/03/05 Boulette présentait un léger abattement. Elle a été opérée dans l'après midi pour une détunnélisation. Dans la nuit, Boulette a subi un épisode d'hypothermie à 36°C.

Du 01/04/05 au 04/04/05 les examens cliniques quotidiens ne révélaient rien de particulier. Le 05/04/05 Boulette avait mis bas quatre chatons prématurés dont deux vivants qui ont été euthanasiés dans la nuit du 04/04/05 au 05/04/05.

Le 06/04/05 des ulcères cutanés sont apparus sur l'antérieur et le postérieur droits. Ces ulcères n'évoluant pas favorablement jusqu'au 10/04/05.

Le 14/04/05, Boulette a été mise en **isolement**.

Le 20/04/05 il y a eu nécrose et ablation de l'autogreffe.

Du 21/04/05 au 15/06/05 les examens cliniques quotidiens ne révélaient rien de particulier.

Fin de l'hospitalisation le 15 Juin 2005.

Les traitements qui ont été administrés à Boulette étaient des antibiotiques (céfalexine puis Synulox) et des anti-inflammatoires (acide tolfénamique). De la morphine a également été injectée pour contrôler la douleur (Annexe 3).

Cas n°7 : JUNIOR

Junior était un chat européen mâle de 4 ans non à jour de ses vaccinations. Il vivait avec Poussinet, chat mâle de 6 ans, ainsi qu'avec un autre chat.

Le 26/03/05 Junior était amené aux consultations d'urgences de l'ENVT. Il a été hospitalisé à l'ENVT entre le 25/03/05 et le 31/03/05. Le 28/03/05 Junior montrait des râles inspiratoires légers.

Junior faisait parti des animaux hospitalisés pendant le recensement des chats présents aux hôpitaux de l'ENVT, lorsque l'épizootie a été suspectée. Il a donc été testé pour une calicivirose féline le 29/03/05. Ses analyses sont revenues positives à un calicivirus félin, bien qu'il ait été asymptomatique.

Des analyses biochimiques ont été réalisées à posteriori le 09/05/05 sur le sang prélevé le 29/03/05 et montraient une activité plasmatique de l'ASAT élevée et des créatines kinase fortement augmentées (Annexe 1).

Le 03/04/05 Junior était de nouveau vu par son vétérinaire habituel qui a constaté des signes respiratoires importants associés à un œdème des membres.

Un traitement symptomatique à base d'anti-inflammatoires (acide tolfénamique) et d'antibiotiques (Clamoxyl) a été mis en place, ainsi qu'une perfusion. De la morphine était également ajoutée pour gérer la douleur (Annexe 3). Le chat étant anorexique, une sonde naso-oesophagienne était posée pour le nourrir. Junior était euthanasié le 06/04/05. Aucune autopsie n'a été effectuée.

Cas n°8 : LEO

Léo était un chat mâle de 10 mois de statut vaccinal inconnu. Il a été amené aux consultations de l'ENVT le 30/03/05, au moment où celles-ci étaient fermées aux chats. Il a donc été vu le 1^{er}/04/05 dans une autre clinique. Il présentait un syndrome fébrile algique. Puis des ulcères de la langue sont apparus. Le chat était hospitalisé du 1^{er}/04/05 au 04/04/05 pour une suspicion de pancréatite et mis sous perfusion et traitement antibiotique.

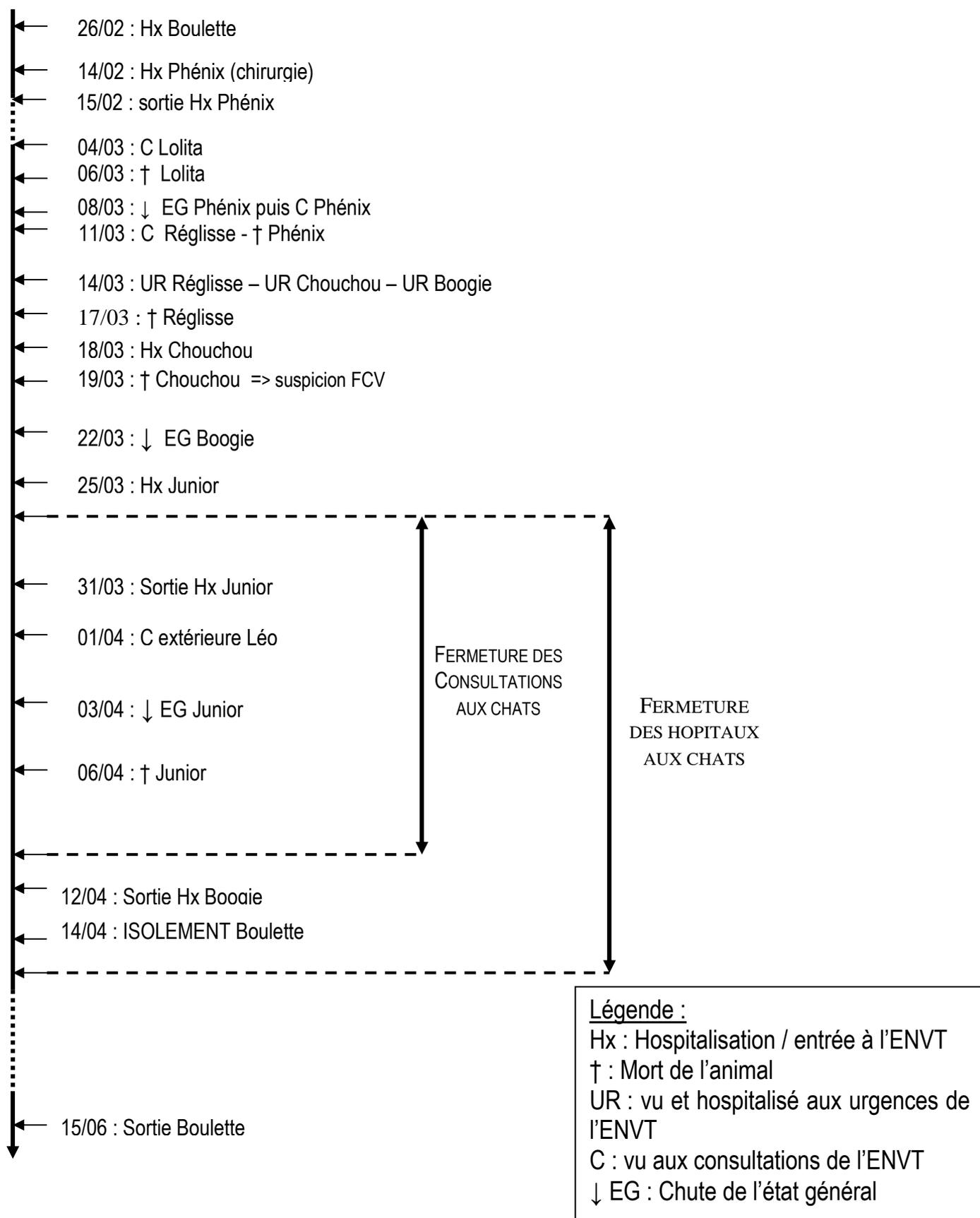
Aucun dossier concernant Léo n'ayant pu être obtenu, certaines données le concernant sont manquantes.

Une demande de prélèvement a été effectuée auprès des vétérinaires l'ayant pris en charge. L'analyse PCR qui a été effectuée sur ce prélèvement était positive pour un calicivirus félin.

Du sang total a été prélevé sur EDTA le 4 Avril. La PCR effectuée sur le prélèvement s'est avérée **positive** au FCV.

Le schéma suivant récapitule les évènements recensés lors de l'épizootie.

Schéma 1: Chronologie des cas de l'épizootie de calicivirose hypervirulente féline



2) Bilan clinique

a) Enseignements des précédentes épizooties

Signes cliniques reportés chez les chats infectés naturellement par le VS-FCV dans les trois principales épizooties [1,3,14]

Signes cliniques	Nombre de cas	
	Parmi les cas totaux	Parmi les cas fatals
Fièvre	31	14
Ulcères oraux	23	7
Œdème facial et/ou des membres	15	6
Anorexie	15	9
Abattement	7	4
Vomissements	7	5
Boiteries	7	4
Ictère	7	7
Croûtes	4	2
Extinction de voix	4	3
Saignements (melena, epistaxis, coagulopathie)	3	1
Alopécies	2	0
Epanchement pleural	2	2
Epanchement abdominal	2	2
Eternuements	2	0
Conjonctivite / Chassie	1	0
Dyspnée	1	1
Diarrhée	1	1
Pneumonie	1	0
Problèmes respiratoires hauts	1	1
Jetage nasal	1	0
Asymptomatique*	3	0
TOTAL	37 chats	15 chats

Tableau 1: Bilan clinique des précédentes épizooties

* Le nombre d'asymptomatiques, par définition, ne peut être correctement évalué à moins de faire des analyses virologiques de masses sur tout animal « potentiellement contaminé », ce qui n'a pas été fait pour des raisons logistiques évidentes. Ce pourcentage reste donc sujet à caution et n'est donc pas interprétable comme représentatif du réel pourcentage d'animaux asymptomatiques présent lors d'une épizootie à VS FCV [1, 3,14].

Concernant L'épizootie qui a touché 54 chats répartis sur 3 cliniques [3], les données ne permettent pas d'obtenir le nombre de chats morts parmi ceux présentant les symptômes listés. Cependant les pourcentages concernant les symptômes sont les suivants : fièvre (81%), Œdème de la

face et/ou des membres (52 %), ulcères oraux (46%), écoulement nasal (30 %), dyspnée (17 %), alopecie ou croûtes (17 %), écoulement oculaire ou conjonctivite (11 %), ictère clinique (11 %), épanchement pleural (9 %), diarrhée (7 %), vomissements (7 %) et boiterie (6 %). De plus, on peut noter lors de cette épidémie l'existence de 3 chats asymptomatiques (6 %) mais donc l'infection a été confirmée par virologie.

Lors des précédentes épizooties, le taux de létalité oscille entre 37.5 et 60 % (33 à 50 % données dans la littérature [1, 2, 3, 14]).

Le taux de survie moyen entre les premiers symptômes et le décès est de 20 jours environ (de 3 à 45 jours). Le temps d'incubation est plus difficile à évaluer mais se situerait aux alentours de 4 jours en moyenne [1, 2, 3, 14].

Les précédentes épizooties se sont étalées sur des durées allant de 15 jours à 3 mois [1, 2, 3, 14]

b) L'épizootie toulousaine :

Signes cliniques	Nombre de cas	
	Parmi les cas totaux	Parmi les cas fatals
Fièvre	5	3
Œdème facial ou des membres	4	2
Ulcères oraux	4	2
Jetage nasal	3	2
Dyspnée	2	2
Ulcération / Alopecie	1	0
Ictère	1	1
Conjonctivite / Chassie	2	2
Eternuements	2	2
TOTAL	8 chats	5 chats

Tableau 2: Bilan clinique de l'épizootie toulousaine

Le taux de létalité est donc de 62,5 %, légèrement au dessus des taux rapportés avant (37,5 – 60 % lors des précédentes épidémies). L'incubation peut être évaluée en moyenne à 4 jours. Le taux de survie moyen pour les animaux concernés est de 5 jours et demi.

Le petit nombre d'animaux concernés durant cette épizootie, ainsi que parfois l'absence de données, ne permet pas de tirer des conclusions probantes mais uniquement certaines « tendances ». Il en est de même pour l'identification des symptômes pouvant aider à établir un pronostic.

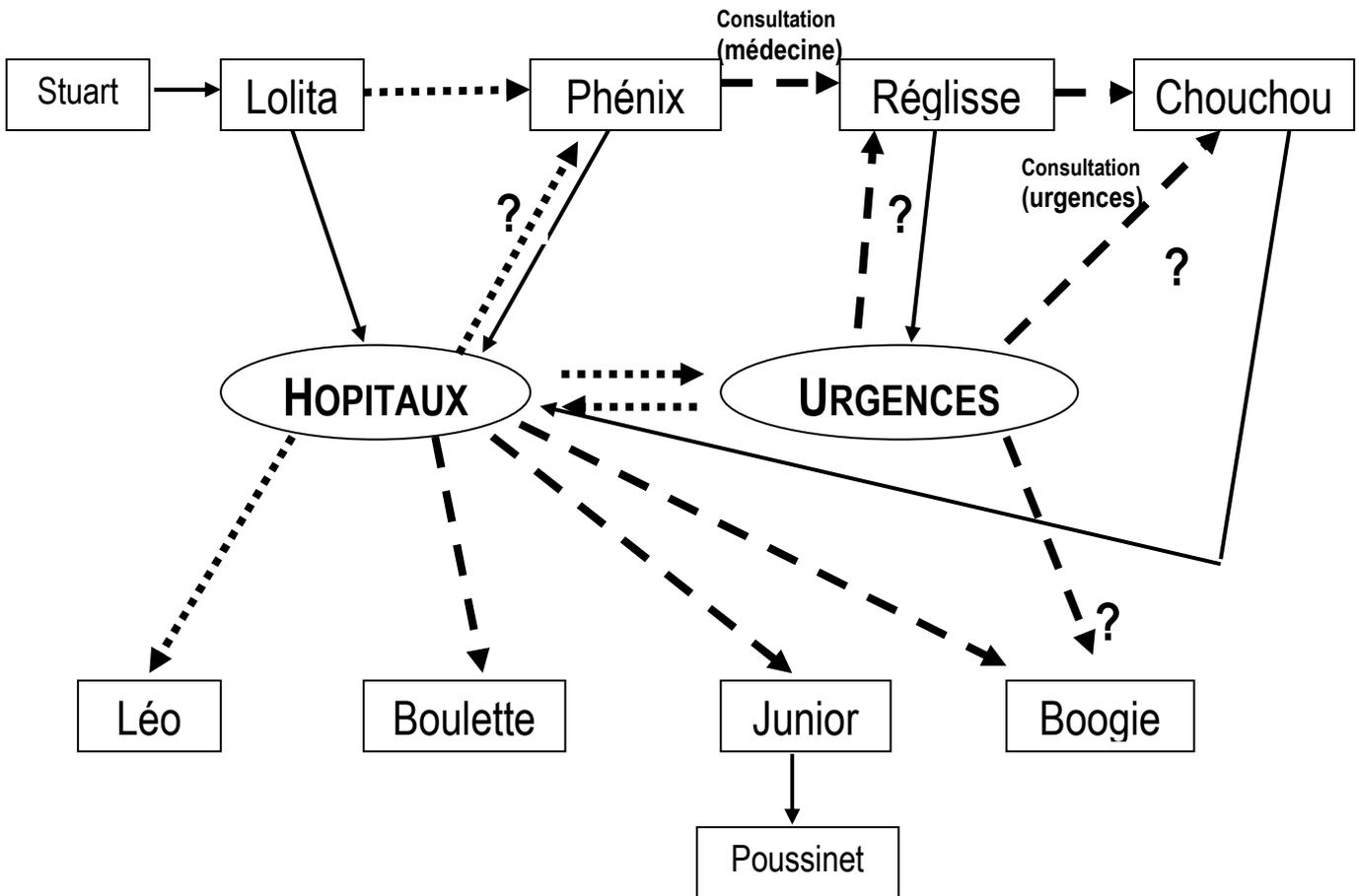
Un bilan transversal concernant les paramètres biochimiques et sanguins n'est pas pertinent étant donné que peu d'analyses ont été réalisées sur la majorité des chats atteints. Seuls peuvent être

cités les résultats concernant quelques animaux, à savoir une lymphopénie, une hyperbilirubinémie, une hypoalbuminémie, une thrombopénie et une augmentation des enzymes hépatiques.

Les analyses histopathologiques effectuées pendant les autopsies de Lolita et de Chouchou ont mis en évidence des lésions de disjonction hépatocellulaire fortement évocatrices d'une atteinte par un calicivirus systémique.

Cette épizootie toulousaine a pu être identifiée grâce à ses similitudes avec les épidémies précédentes. Tant par ses aspects cliniques (présence d'ulcères, œdèmes, ictère...) que par son aspect épidémiologique. On peut en effet constater que, comme lors des épizooties antérieures, les animaux touchés sont en nombre réduit. De plus, l'épizootie survient et se résout de façon aussi soudaine qu'énigmatique dans un laps de temps de deux mois en moyenne [3, 6]. Dans ce cas précis, il s'est écoulé un peu plus d'un mois entre le premier cas identifié et le dernier cas détecté positif. Le premier cas recensé contaminé est celui de Lolita. Le schéma présumé de contamination qui s'en est suivi est présenté au schéma numéro 2. Lolita a été hospitalisée du fait de la gravité de son état. C'est à partir de là que la chatterie des hôpitaux de l'ENVT a joué le rôle de « plaque tournante » de la contamination, permettant ainsi la transmission du virus vers Phénix et Boulette. En revanche, Léo n'a jamais été présent sur le site de l'ENVT, il a été contaminé par le biais de sa propriétaire, une étudiante qui travaillait aux hôpitaux au moment des faits. La transmission du virus s'est sans doute effectuée par le biais d'un contact avec la blouse ou les vêtements que cette dernière utilisait pour travailler. Ceci illustre parfaitement la résistance importante du virus dans le milieu extérieur permettant son transport passif, même sur des supports inertes.

Schéma 2: Contamination des différents cas



Légende :

- ➔ Contamination indirecte par le biais des locaux
- ➔ Contamination directe
- ⋯ ➔ Contamination indirecte par le biais du personnel
- ? Incertitude

L'épidémie a commencé avec Stuart qui n'a pas été vu à l'école et qui s'est remis. Ce dernier a contaminé Lolita, avec laquelle il vivait. Par la suite, Lolita a été hospitalisée, et de ce fait, a contaminé les hôpitaux. La propriétaire de Phénix était une étudiante qui s'est occupé de Lolita et qui a donc contaminé son chat de façon indirecte. Réglisse a été contaminé par le biais de Phénix en consultation de médecine. Réglisse a par la suite contaminé Chouchou durant sa consultation aux urgences. Ce dernier a par la suite contaminé les hôpitaux. Les hôpitaux contaminés, quant à eux, ont ainsi touché Boulette, Boogie et Junior, hospitalisés pour des motifs différents de la calicivirose. Junior a transmis l'affection à Poussinet qui vit avec lui. Enfin, Léo le chat d'une étudiante a été contaminé fort probablement de façon indirecte par transport passif du virus par sa propriétaire qui était présente aux hôpitaux la semaine du 29 Mars.

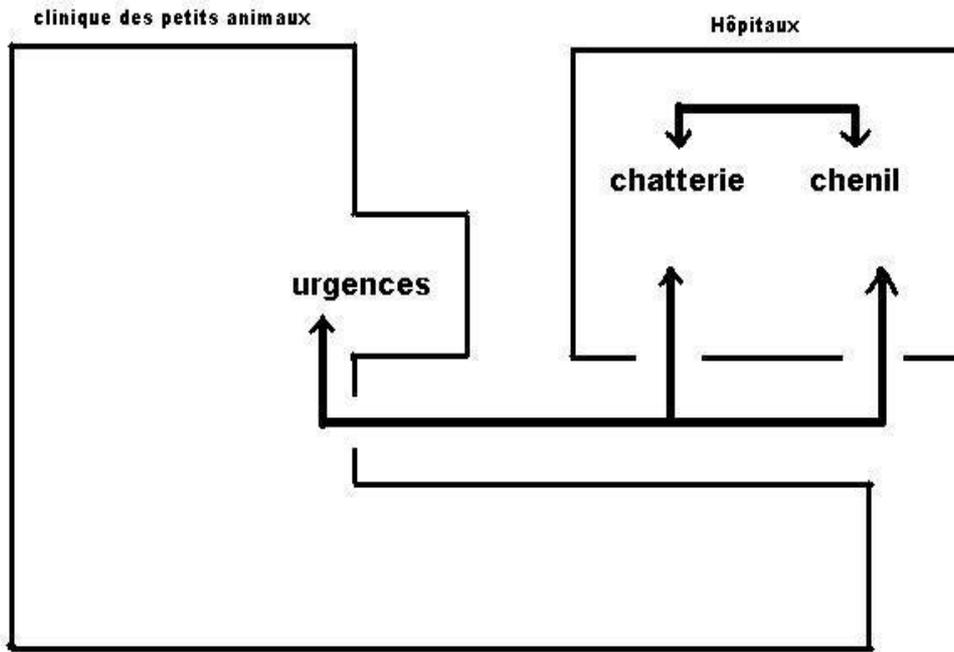


Schéma 3 : Plan de la clinique et des hôpitaux de l'ENVT et les mouvements de personnel entre les deux

3) Analyses virologiques

Le virus responsable de l'épizootie toulousaine a été détecté par RT-PCR, réalisée à partir des échantillons biologiques récoltés au cours de l'épisode. Certains amplicons obtenus ont permis d'effectuer une analyse phylogénétique caractérisant la souche virale toulousaine..

Ainsi, pour permettre l'amplification et le séquençage de la région E variable du gène de capside du FCV provenant des différents isolats, les amorces FCVCapseq4F et 4R ont été élaborées et des RT-PCRs ont été effectuées sur 13 des 19 échantillons disponibles (tableau 3).

Les séquences obtenues ont été comparées entre elles et avec des séquences disponibles dans la base de données « GenBank ». Ces analyses ont montré que les souches de FCV isolées lors de l'épidémie sont très proches les unes des autres mais ne sont pas clairement reliées aux échantillons obtenus lors des épidémies antérieures.

Ces analyses permettent de confirmer le diagnostic d'épizootie focale. La même souche a été isolée dans tous les prélèvements analysés. Cette souche est distincte de celles isolées lors des autres foyers épizootiques décrits.

Les 18 échantillons biologiques collectés sur les 8 cas cliniques ont été soumis à une analyse de routine pour identifier un FCV et tous les échantillons ont donné un résultat positif (tableau 1

De plus, tous les échantillons collectés durant l'épidémie ont été soumis à une quantification de charge virale (tableau 3 et annexe 5).

Tableau 3: Résultats des analyses des échantillons pour la recherche de FCV

Chat	Echantillon	Nom de l'échantillon	Résultats de la RT-PCR		Numéro d'accès
			Résultat qualitatif	Résultat quantitatif	
Lolita	Plasma	Isolat_1	+	< 40 genomes / μ l	EU202911
Phénix	sang	Isolat_2	+	316 genomes / μ l	EU202912
Régliisse	Plasma	Isolat_3	+	< 40 genomes / μ l	EU202913
Chouchou	sang	Isolat_4a	+	3830 genomes / μ l	EU202914
	Souche après 2 passages sur cellules (P2) (10^8 DICC50/ml)	Isolat_4b	+	$4.52 \cdot 10^6$ genomes / μ l	EU202915
Boulette	Cellules oropharyngées	Isolat_5a	+	$4.68 \cdot 10^4$ genomes / écouvillon	EU202916
	Raclage cutané	Isolat_5b	+	$6.71 \cdot 10^6$ genomes / écouvillon	EU2029117
	sang	Isolat_5c	+	< 40 genomes / μ l	Non séquencé
	Cellules conjonctivales	Isolat_5d	+	9960 genomes / écouvillon	Non séquencé
	Urine	Isolat_5e	+	< 40 genomes / μ l	Non séquencé
	Écouvillon rectal	Isolat_5f	+	$1.42 \cdot 10^5$ genomes / écouvillon	Non séquencé
Boogie	sang	Isolat_6a	+	346 genomes / μ l	EU202918
	Cellules oropharyngées	Isolat_6b	+	$1.11 \cdot 10^8$ genomes / écouvillon	EU202919
	Cellules conjonctivales	Isolat_6c	+	$1.56 \cdot 10^5$ genomes / écouvillon	EU202920
	Raclage cutané	Isolat_6d	+	$1.94 \cdot 10^7$ genomes / écouvillon	EU202921
	Urine	Isolat_6e	+	< 40 genomes / μ l	Non séquencé
	Écouvillon rectal	Isolat_6f	+	$9.22 \cdot 10^5$ genomes / écouvillon	Non séquencé
Junior	Sang	Isolat_7	+	174 genomes / μ l	EU202922
Léo	Sang	Isolat_8	+	4455 genomes / μ l	EU202923

4) Désinfection et prophylaxie mise en place

Durant les précédentes épizooties impliquant des souches hypervirulentes de calicivirus, il a été remarqué que la transmission indirecte du virus joue un rôle important dans sa propagation. En effet il est arrivé à plusieurs reprises que les chats du personnel de la clinique soient contaminés par le biais de leurs propriétaires. De même pour les déplacements d'une clinique à une autre, ou d'une pièce d'isolement vers une autre. De plus, il semblerait qu'un contact bref (contention) soit suffisant pour permettre le transport du virus.

Concernant l'épisode toulousain, une fois le risque contagieux établi, des mesures sanitaires adéquates ont été mises en place, se basant sur les recommandations tirées des précédentes crises.

Tout d'abord, les consultations de l'ENVT étaient fermées aux chats **du 30 Mars 2005 au 11 Avril 2005** (13 jours). Les hospitalisations de chats quant à elles, étaient arrêtées **du 30 Mars 2005 au 19 Avril 2005** (21 jours). Durant ce laps de temps, les hôpitaux subissaient une désinfection selon le protocole usuel dans ce cas de figure (Annexes 3 et 3bis). Ils étaient nettoyés à la vapeur puis désinfectés avec du Desogerme Virex® par trempage et brumisation. Les doses et les fréquences sont indiquées dans le tableau de désinfection des hôpitaux mis en annexe 4.

En parallèle, des consignes étaient données aux propriétaires des animaux atteints qui ont pu rentrer chez eux, afin de permettre d'éviter toute contamination des autres chats avec lesquels ils auraient pu être en contact. Il leur a été conseillé de se laver les mains soigneusement après tout contact avec un chat contaminé, surtout avant d'en toucher un autre, d'éviter toute contamination indirecte (par le biais de brosses, panier de transport...) et d'éviter tout contact direct entre le chat contaminé et les autres chats « sains ». Des consignes similaires étaient également données au personnel et aux étudiants de l'ENVT qui travaillaient aux cliniques ou aux hôpitaux durant la période à risque.

Boulette, le dernier cas positif présent aux hôpitaux des petits animaux de l'ENVT, était isolée dans des locaux totalement séparés physiquement des bâtiments des hôpitaux et des consultations et ce, durant une période de 2 mois jusqu'à sa sortie (du 14/04/05 au 15/06/05). Le personnel ayant accès à l'animal devait porter un masque, un calot, des gants, des protèges chaussures, et une blouse jetable. De plus, ce personnel n'avait aucun autre chat en charge par mesure de précaution. L'accès aux locaux où était isolée Boulette se faisait en passant par des pédiluves remplis avec du Desogerme Virex® (Annexe 4bis).

PARTIES III : DISCUSSION

La forme clinique la plus courante, et fréquente, de contamination par un calicivirus félin est une atteinte de type « rhume », à savoir : congestion nasale, éternuements, accompagnés parfois d'une atteinte oculaire de type conjonctivite. Cependant, la forme plus grave, entraîne un tableau clinique bien plus sérieux qui comprend, entre autres, une anorexie, un ictère, des ulcères de la cavité buccale, des œdèmes cutanés, des difficultés respiratoires, pour les symptômes les plus fréquemment rapportés.

Depuis quelques années, des épizooties causées par des souches hypervirulentes de calicivirus félin ont pu être recensées de façon croissante, notamment en Amérique du Nord et au Royaume-Uni [1, 2, 3, 5]. C'est entre Février et Avril 2005 qu'un autre épisode a eu lieu, touchant les hôpitaux et la clinique des petits animaux de l'ENVT.

Les interrogatoires téléphoniques menés a posteriori auprès des personnes potentiellement concernées, c'est-à-dire les propriétaires de chats, ont été très vagues. En effet, il leur était demandé si leur chat avait eu des problèmes quelconques au cours des derniers mois. Malheureusement, sans signaler aucun symptôme évocateur, il se peut que les gens oublient avec le temps des manifestations discrètes, comme un léger abattement de quelques jours ne nécessitant pas une visite chez le vétérinaire. Il aurait été sans doute plus pertinent d'évoquer certains symptômes pour mieux cibler d'éventuels événements peu « marquants » pour la mémoire du propriétaire.

De plus, les personnes contactées dans la clientèle étaient uniquement les propriétaires de chats étant venu à l'ENVT pendant la période à risque. Cependant, le virus étant assez résistant et pouvant donc être transmis de façon indirecte, il aurait été judicieux d'inclure également les propriétaires de chiens, possédant également un chat, ayant fréquenté l'ENVT. En effet, un chien hospitalisé au moment de l'épizootie pouvait également potentiellement jouer le rôle de vecteur passif pour un chat de son foyer, même si cette probabilité reste relativement faible. Car même si le chenil et la chatterie sont séparés, ils sont cependant dans le même bâtiment, et les mouvements de personnel sont très importants entre les deux, les étudiants étant souvent chargés de plusieurs cas en même temps (chats comme chiens).

Au final, cette épizootie affiche un taux de mortalité de 60 % ce qui est au dessus des taux relevés dans les précédentes épizooties (entre 33 et 50 %) [2, 5, 6]. Cependant, comme l'ont montré les autopsies, les causes exactes de la mort restent difficiles à déterminer. Dans ce cas précis, les données concernant l'influence du sexe, de l'âge ou encore du statut vaccinal sont insuffisantes pour tirer des

conclusions. Mais dans les épizooties précédentes, il semblerait qu'aucun de ces trois facteurs ne joue un rôle.

La quantification des charges virales (tableau 3) montre clairement un tropisme important du virus pour les cellules conjonctivales, oropharyngées, cutanées et des vaisseaux sanguins [1,17]. Ceci permet d'expliquer que les symptômes les plus graves soient les nombreux ulcères de la sphère oropharyngée et les multiples œdèmes cutanés observés. La méthode de choix pour confirmer le diagnostic de calicivirose reste la RT-PCR, effectuée de préférence sur des écouvillons oropharyngés ou conjonctivaux, aux vues du tropisme du virus [2,17]. L'isolement viral est également utilisé mais dépend de la qualité des prélèvements et est donc plus aléatoire. La sérologie est une piste encore expérimentale concernant le VS-FCV, mais peu spécifique et pertinente pour le diagnostic étant donné le grand nombre de souches de calicivirus existantes.

La détection des animaux qui pourraient éventuellement être « porteurs sains » est importante, bien que leur existence et leur rôle dans ce type d'épizootie ne soient pas clairement définis. Un chat sur quatre serait porteur, dans sa sphère oropharyngée, d'un FCV. Les amygdales et le mucus environnant seraient les éléments potentiellement contaminant majeurs. Le virus pourrait être présent des semaines voire des mois après une infection [1, 17, 18].

En termes d'épidémiologie, pour l'épizootie toulousaine, un des axes de contamination se trouve dans les locaux des urgences de l'ENVT. Ils sont situés dans un autre bâtiment que celui des hôpitaux et possèdent leurs propres cages, en nombre réduit, pour hospitaliser les animaux amenés. Le point de contamination primaire des urgences est l'admission de Réglisse, ce qui a entraîné par la suite la contamination de Junior et de Chouchou. Le passage du virus des hôpitaux vers les urgences reste hypothétique. Il est cependant fort probable que celle-ci soit due à un transport passif du virus par le personnel. En effet, bien que les bâtiments soient séparés physiquement, on peut toujours noter un mouvement relativement intense du personnel assigné aux hôpitaux et aux urgences, entre ces deux services, qui du fait de leur nature même, collaborent forcément (schéma 3). De plus, on a pu noter deux contaminations de chats possédés par des étudiants travaillant aux Cliniques ou aux hôpitaux au moment des faits : Phénix et Léo.

Enfin, sur le schéma global de contamination (schéma 2), on note également deux contaminations « annexes », non nosocomiales, simplement liées au fait que certains des chats contaminés ont transmis le virus aux congénères avec lesquels ils vivaient, sûrement par contact direct. Cela a été le cas pour Lolita, contaminé par Stuart et pour Poussinet, contaminé par Junior.

Lors des précédentes épizooties, la question de l'influence de certains facteurs, tels que la vaccination contre le FCV et l'âge, sur l'évolution de la maladie a été soulevée [1, 2]. Cependant, dans ce

cas présent, le faible nombre de patients et le manque de données concernant la vaccination ne peut permettre de se prononcer. Si des études à plus grand échelle ont permis de montrer que les chatons sont de manière générale moins touchés par une évolution fatale de la maladie [2], on peut constater que, excepté Phénix qui est mort (âgé de 5 mois), ce sont les chats les plus vieux qui n'ont pas survécu (Chouchou, Réglisse, Junior). De plus, dans les précédentes épizooties, la maladie s'est déclarée chez des animaux apparemment en bonne santé et avec un protocole vaccinal à jour. La vaccination n'est malheureusement apparue protectrice dans aucune crise avec des VS-FCV. Dans le cas de l'épizootie toulousaine, le statut vaccinal n'est pas connu pour tous les chats, mais il ne semble pas que cela ait influencé l'issue de l'infection.

Une fois la nature du problème identifié, un dépistage a été mis en place afin de prendre les mesures adéquates par la suite. Tous les chats qui étaient déjà hospitalisés au moment de la période à risque ont été testés grâce à des PCRs. Les animaux négatifs ont été renvoyés chez eux dans les plus brefs délais. 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 dût exister [17, 18].

Le tableau clinique complexe et relativement rare de ce genre d'épizootie a entraîné une certaine latence dans l'établissement du diagnostic. En effet, entre le premier cas qui a contaminé les hôpitaux (Lolita, le 4 Mars 2005) et les nombreux cas qui s'en sont suivis de façon rapprochée entre le 11/03/05 et le 18/03/05, la contamination des locaux avait déjà eu lieu. C'est donc suite à ces nombreux cas évocateurs d'une infection par un calicivirus virulent, que la décision de fermer les consultations et les hôpitaux aux chats a été prise (fermeture effective le 30/03/05). En se basant sur les propriétés des calicivirus qui sont très résistants dans le milieu extérieur (ceux-ci pouvant résister en milieu sec à une température de 20 °C pendant 28 jours [9]), les consultations ont été fermées durant 13 jours et les hôpitaux pendant 21 jours. Le délai de fermeture a été plus long pour les hôpitaux, les endroits de type chatterie avec regroupement d'un certain nombre de chats, étant les pierres angulaires de la contamination dans ce genre d'épizootie [6, 19]. Les principes de précautions usuellement conseillés [2, 6] ont été appliqués et les consignes données à toutes les personnes concernées pour limiter au maximum les risques de contamination. De plus, le dernier cas présent aux hôpitaux et confirmé positif à la détection de calicivirus a été mis en isolement le 14/04/05 (Boulette) c'est-à-dire 5 jours avant la réouverture des hôpitaux aux chats. Ce délai est donc inférieur aux temps maximum de résistance du virus.

Durant les précédentes épizooties, les consignes appliquées ont été celles d'une hygiène stricte concernant le nettoyage et la désinfection de tout le matériel en contact avec des sujets potentiellement contaminés, et d'attendre au moins 4 semaines avant de remettre ce matériel en contact avec des chats, isoler les animaux suspects, réaliser un suivi régulier (à une semaine d'intervalle) du statut virologique des animaux par des PCRs, avertir les propriétaires possédant d'autres chats des signes pouvant signaler une atteinte par le FCV, fermer les locaux aux chats pendant au moins 1 à 2 semaines.[3, 6, 17]

Pour permettre d'assainir totalement les locaux de l'ENVT, le protocole de désinfection usuel a été instauré dans les hôpitaux (annexe 4). Le produit employé est du Désorgerme Virex® et comme l'indique sa fiche technique (annexe 4bis), c'est un produit de type alcool dépourvu de phénol, de chlore ou d'iode. Cependant, une étude menée sur l'efficacité des désinfectants, notamment contre les FCV, a démontré que les désinfectants les plus efficaces contre les FCV sont les désinfectants phénoliques, le formaldéhyde ou encore une solution d'hypochlorite de sodium (à 0.175 %), tous utilisés dans des conditions idéales c'est à dire après un protocole de nettoyage et pendant un temps de contact de 10 minutes à température ambiante, le tout aux concentrations recommandées par le fabricant [2, 3, 7]. De plus, avec l'emploi de l'eau de javel, il faut s'assurer d'un bon nettoyage pour éviter son inactivation par des matières organiques. Cependant, aucun problème n'a été rapporté depuis. Donc on peut supposer que si le protocole choisi n'a pas été idéal, il a tout de même contribué à enrayer l'épizootie.

L'hypothèse de l'émergence d'une nouvelle souche virale responsable de ces épizooties est intéressante mais semble remise en cause par le fait que, si les isolats viraux impliqués dans une même épizootie sont très proches d'un point de vue phylogénique, il n'en est pas de même pour les souches des différents foyers épizootiques, lorsqu'on les compare entre elles [4]. On pourrait expliquer la convergence clinique par un (ou des) mécanisme(s) selon lequel différents mutants viraux partageraient des conséquences pathogéniques communes, quand ils infectent des cellules félines, tout particulièrement en cas de l'implication de phénomènes immunopathologiques [4, 18]. Sachant que les calicivirus ne présentent qu'une seule protéine de capsid et que cette dernière est impliquée 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 que l'emploi d'un nouveau récepteur, ou tout autre type d'interaction entre le virus et l'hôte, pourraient être le résultat de modifications 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 ainsi menées sur les interactions entre les VS-FCV et les cellules hôtes. Ces études 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- α . [5].

En conclusion, on peut retenir que les calicivirus sont des virus à ARN caractérisés par une instabilité de leur génome [10]. Il est donc fort probable que ce genre d'épizootie réapparaisse à l'avenir. Grâce aux nombreuses publications à ce sujet, à la vigilance des vétérinaires et à l'application des consignes prophylactiques évoquées précédemment, il sera désormais plus facile de les détecter et d'en prévenir l'extension.

PARTIE IV : CONCLUSION

L'identification des épizooties à calicivirus hypervirulents est loin d'être évidente comme le prouvent les précédents américains et européens. Il est donc nécessaire de mettre en avant les points clés permettant, d'une part l'identification de symptômes évocateurs d'une épizootie et d'autre part les mesures sanitaires à prendre pour limiter au maximum sa propagation. L'absence d'efficacité vaccinale, la forte létalité et la facilité de transmission sont autant de raisons pour mettre l'accent sur les mesures sanitaires et prophylactiques.

Celles-ci peuvent être résumées à des points clés [19] :

- Isolement strict de tout cas suspect

De plus, le personnel soignant l'animal doit être limité et utiliser des vêtements protecteurs à usage unique à chaque manipulation de l'animal suspect (blouses, surbottes, calots, gants...). Les mains doivent être soigneusement lavées après chaque manipulation, même en cas d'usage de gants. Si l'isolement physique strict ne s'avère pas possible (ce qui est souvent le cas dans des cliniques classiques ne disposant pas de plusieurs bâtiments distincts), le chat suspect, si son état le permet, doit être traité à domicile. Ceci est possible dans la mesure où il n'y a pas d'autres chats dans le foyer.

- Isolement strict de tous les chats potentiellement contaminés pendant au moins deux semaines après l'exposition supposée. Les chats ayant pu être exposés (en cas d'hospitalisation ou de façon indirecte) doivent faire l'objet d'une surveillance accrue avec la recherche de signes éventuels d'infection : fièvre, ulcérations, anorexie...

- Pour plus de précaution, la fermeture des consultations et des hospitalisations aux chats pendant au moins trois semaines est recommandée. Deux semaines peuvent suffire suite à un protocole de nettoyage/désinfection rigoureux.

- Recherche du calicivirus par PCR sur écouvillon oropharyngé chez les chats symptomatiques et chez les chats asymptomatiques potentiellement contaminés. Ceci permet de confirmer le diagnostic d'épizootie à calicivirus hypervirulent mais également d'identifier les cas représentant un danger. Le critère pour déclarer un chat « guéri » est deux PCR négatives à au moins deux semaines d'intervalle.

- 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^{ième} dans de l'eau. Le temps de contact devra être d'au moins 10

minutes à température ambiante. 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 soucieux 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.

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.

- La contamination indirecte d'animaux du personnel ayant eu lieu dans les précédentes épizooties, il est important d'informer le dit personnel afin qu'il prenne les mesures nécessaires pour ne pas contaminer ses propres animaux, ou bien de transmettre le virus dans une autre clinique où il travaillerait.

- Une campagne d'information doit être effectuée auprès des propriétaires concernés et des autres propriétaires de chats. Ceux-ci pouvant alerter la clinique en cas de symptômes évocateurs (abattement, anorexie, fièvre, ulcères, œdèmes...) pour que les mesures idoines soient prises le plus rapidement possible. Les cliniques, refuges, et chatteries voisines doivent également être informées, toujours dans un souci de prévention. Un rapport aux autorités sanitaires peut également être envisagé bien que les épizooties ne constituent pas une réelle menace sanitaire [19].

ANNEXES

- Annexe 1 : Résultats biochimiques
- Annexe 1bis : Résultats hématologiques
- Annexe 2 : Résultats des autopsies
- Annexe 3 : Traitements mis en place
- Annexe 4 : Tableau général de désinfection des hôpitaux de l'ENVT
- Annexe 4bis : Fiche technique détaillée du désinfectant Desogerme Virex® utilisé
- Annexe 5 : Graphique des analyses PCR
- Annexes 6 : Matériel et méthodes employées pour toutes les analyses cliniques effectuées
- Annexe 6a : Virologie
- Annexe 6b : Analyses biochimiques, sanguines et urinaires
- Annexe 6c : Analyses cytologiques des épanchements
- Annexe 6d : Autopsies
- Annexe 6e : Prélèvements histo-pathologiques

ANNEXE 1 : RESULTATS BIOCHIMIQUES

Paramètres	Lolita	Phénix	Régisse	Chouchou	Valeurs Usuelles
Protéïnémie	<u>45,2</u>	62,8	71,6	<u>73,9</u>	55-71 g/L
Albuminémie	<u>16,3</u>	<u>26,3</u>	Nev	27	27-39 g/L
Fibrinogène	<u>8</u>	<u>4,5</u>	<u>5</u>	Nev	1-3 g/L
Bilirubinémie	<u>51,5</u>	<u>13,4</u>	Nev	3,4	1,7-8.4 µmol/L
Créatininémie	<u>71,6</u>	<u>63</u>	<u>294,2</u>	138,8	80-229 µmol/L
ALAT	<u>159</u>	105	Nev	52	20-107 UI/L
Gamma GT	<u>11</u>	<u>6</u>	Nev	<u>6</u>	< 5 UI/L
Calcémie	<u>1,88</u>	Nev	Nev	Nev	2,3-2,9 mmol/L
Kaliémie	<u>3,4</u>	Nev	Nev	<u>3,2</u>	3,5-5,1 mmol/L
Urémie	6,8	Nev	Nev	Nev	5,4-10,4 mmol/L
Glycémie	8,44	Nev	Nev	Nev	4,2-11 mmol/L

Source : Dossiers cliniques de l'ENVV

Paramètres	Boogie	Boulette	Junior	Léo	Valeurs Usuelles
Protéïnémie	Nev	Nev	69,9	Non Disp.	55-71 g/L
Albuminémie	Nev	Nev	32,7	Non Disp.	27-39 g/L
Fibrinogène	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	0.05-0.30 g/dl
Bilirubinémie	Nev	Nev	7,5	Non Disp.	1,7-8.4 µmol/L
Créatine kinase	Nev	Nev	<u>4543</u>	Non Disp.	49-688 µmol/L
ALAT	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	20-107 UI/L
Gamma GT	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	< 5 UI/L
Calcémie	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	1,3-2,9 mmol/L
Kaliémie	Nev	Nev	3,9	Non Disp.	3,5-5,1 mmol/L
Urémie	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	0,4-0,6 g/L
Glycémie	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	0,7-1,1 g/L

Source : Dossiers cliniques de l'ENVV

ANNEXE 1bis : RESULTATS HEMATOLOGIQUES

Paramètres	Lolita	Phénix	Régisse	Chouchou	Valeurs usuelles
Lymphocytes	<u>616</u>	<u>300</u>	<u>184</u>	<u>126</u>	1500-7000/ μ L
Thrombocytes	<u>112.10³</u>	<u>140.10³</u>	<u>185.10³</u>	<u>239.10³</u>	300-800.10 ³ / μ L
Hématocrite	43	27	38	33	24-45 %
TCA	Nev	<u>39,4</u>	Nev	Nev	10-14 s.
TQ	Nev	<u>10,8</u>	Nev	Nev	6-8 s.

Source : Dossiers cliniques de l'ENVV

Paramètres	Boogie	Boulette	Junior	Léo	Valeurs usuelles
Lymphocytes	<u>600</u>	Nev	Nev	Non Disp.	1500-7000/ μ L
Thrombocytes	<u>157.10³</u>	Nev	Nev	Non Disp.	300-800.10 ³ / μ L
Hématocrite	28	Nev	<u>20</u>	Non Disp.	24-45 %
TCA	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	10-14 s.
TQ	Nev	Nev	Nev	Non Disp.	6-8 s.

Source : Dossiers cliniques de l'ENVV

Légende :

Nev : Non évalué

Non Disp. : Non disponible

ANNEXE 2 : RESULTATS DES AUTOPSIES

Cas n°1 : LOLITA

Mort de l'animal le 6 Mars 2005. Autopsie réalisée le 7 Mars 2005.

L'examen externe révèle la trace d'un cathéter posé sur le membre antérieur droit ainsi qu'une enophtalmie. L'examen rapproché permet de constater des muqueuses sub-ictériques et la présence d'ulcères gingivaux.

A l'ouverture de la cavité abdominale, un exsudat sero-hémorragique (d'environ 100 mL) est mis en évidence. L'ouverture de la cavité thoracique permet de constater la présence d'un exsudat de couleur plus foncé que le précédent et en quantité plus importante (environ 200 mL). Un ictère généralisé des tissus internes est constaté.

La ponction de la vessie a permis de prélever 80 mL d'urine de couleur verdâtre. Les reins étaient pâles et de couleur jaune.

La rate était normale. Le foie avait une couleur légèrement jaune et la présence d'une petite quantité de fibrine sur la capsule laisse soupçonner une atteinte hépatique. La vésicule biliaire contenait une bile de consistance épaisse.

Dans la cage thoracique, les poumons étaient rouges, affaissés, conséquence de leur compression par l'épanchement. Le cœur était normal.

L'estomac était vide et aucune anomalie n'a été relevée concernant le système digestif.

Des prélèvements du foie et du rein ont été effectués et envoyés pour analyse histopathologique.

Cas n°4 : CHOUCYOU

Mort de l'animal le 19 Mars 2005. Autopsie réalisée le 20 Mars 2005.

L'examen externe ne révèle rien de particulier excepté que l'animal est très gras.

L'examen rapproché permet de constater des lésions nécrotiques aux deux commissures des lèvres. L'examen de la cavité buccale met en évidence la présence d'un ulcère noirâtre sur le bord libre de la langue.

La trachée est touchée par un œdème spumeux de gravité légère à modérée. Les poumons ne sont pas affaissés et homogènes à la palpation, rien de particulier à noter les concernant. Le cœur est normal.

Rien de particulier concernant l'appareil digestif excepté une vacuité de l'intestin grêle et un léger épaississement de la valvule iléo-caecale, supposé d'origine agonique. Le mésentère est chargé en gras.

Le diaphragme, la rate et les reins sont normaux.

Le foie, quant à lui, présente un parenchyme friable. De plus, une hépatomégalie est constatée. Des foyers grisâtres d'environ 4 mm de diamètre parsèment le parenchyme. Une coloration globale jaunâtre est notée, même à la coupe. La vésicule biliaire est normale.

ANNEXE 3 : TRAITEMENTS MIS EN PLACE

Traitements	Doses	Voies d'administration	Fréquences d'administration
Morphine	0,1 mg/kg	IV	Toutes les 4 heures
Céfalexine	30 mg/kg	IV	2 fois/jour
	25 mg/kg	PO	2 fois/jour
Amoxicilline	20 mg/kg	IV ou PO	2 fois/jour
Doxycycline	10 mg/kg/j	PO	2 fois/jour
Rilexine	22 mg/kg	IV	2 fois/jour
Acide tolfénamique	4 mg/kg	SC ou IM	Tous les 2 jours
Meloxicam	0,1 mg/kg	SC	1 fois/jour
	0,2 mg/kg le 1 ^{er} jour		
Pérubore®		Inhalations	3 fois/jour
Pansoral®	Un sachet	PO	Avant chaque repas

Source : Dossiers cliniques de l'ENVT

Légende :

IV : Intra-Veineuse
 PO : Per Os
 SC : Sous Cutanée
 IM : Intra Musculaire

ANNEXE 4 : Tableau général de désinfection des hôpitaux de l'ENVT

LIEUX SUPPORTS	PRODUITS DE LAVAGE	DOSAGE	FREQUENCES	PRODUIT DE DESINFECTION	DOSAGE	FREQUENCES
SOLS	AXIS HYGIENET Autolaveuse	1%	QUOTIDIEN	DESOGERME 3 A ELEVAGE Autolaveuse	5%	UNE FOIS PAR SEMAINE
MURS	AXIS HYGIENET manuellement	1%	SI SOUILLURES	DESOGERME VIREX pulvérisateur	40%	SI SOUILLURES
PLAN DE TRAVAIL	AXIS HYGIENET spray	1%	APRES CHAQUE UTILISATION	DESOGERME VIREX spray	40%	APRES CHAQUE UTILISATION
BAIGNOIRES	AXIS HYGIENET manuellement	1%	APRES CHAQUE UTILISATION	DESOGERME 3 A ELEVAGE pulvérisateur	5%	APRES CHAQUE UTILISATION
CAGES	AXIS HYGIENET pulvérisateur + rinçage	1%	APRES CHAQUE UTILISATION	DESOGERME 3 A ELEVAGE pulvérisateur	5%	APRES CHAQUE UTILISATION
AIR				DESOGERME VIREX Atomist	40%	LORS DES GRANDS NETTOYAGES OU APRES UN PROBLEME SEPTIQUE
HYGIENE DES MAINS	SAVON BACTERICIDE FONGICIDE / VIRICIDE MANIBACT		AVANT ET APRES CHAQUE MANIPULATION			AVANT ET APRES CHAQUE MANIPULATION

ANNEXE 4bis : FICHE TECHNIQUE DU **DESOGERME VIREX®**

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

- Liquide limpide, incolore, peu moussant avec une odeur alcoylé de pin,
- Densité à 20°C : environ 0,84,
- pH du produit concentré = environ 5,
- pH du produit dilué à 10% = environ 7,
- Indice de réfraction ; environ 1,378 à 20°C,
- Mouillant et pénétrant,
- Evaporation rapide,
- Miscible à l'eau et aux solvants polaires (alcool, glycols...),
- Dilué à 10% dans l'eau, donne une légère opalescence blanche,
- Point de gel du produit concentré : inférieur à - 20°C,
- Ininflammable ; 21°C<point éclair<55°C,

CARACTERISTIQUES CHIMIQUES

- Solution alcoolique de différents composés organiques, microbicides synergisés et anti-corrosion,
- Exempt de chlore, phénol, iode, formol,
- Compatible avec les composés organiques non ioniques et cationiques,
- Incompatible avec les composés organiques anioniques,
- N'attaque pas les plastiques ni les métaux (aciers, cuivre, laiton, aluminium).

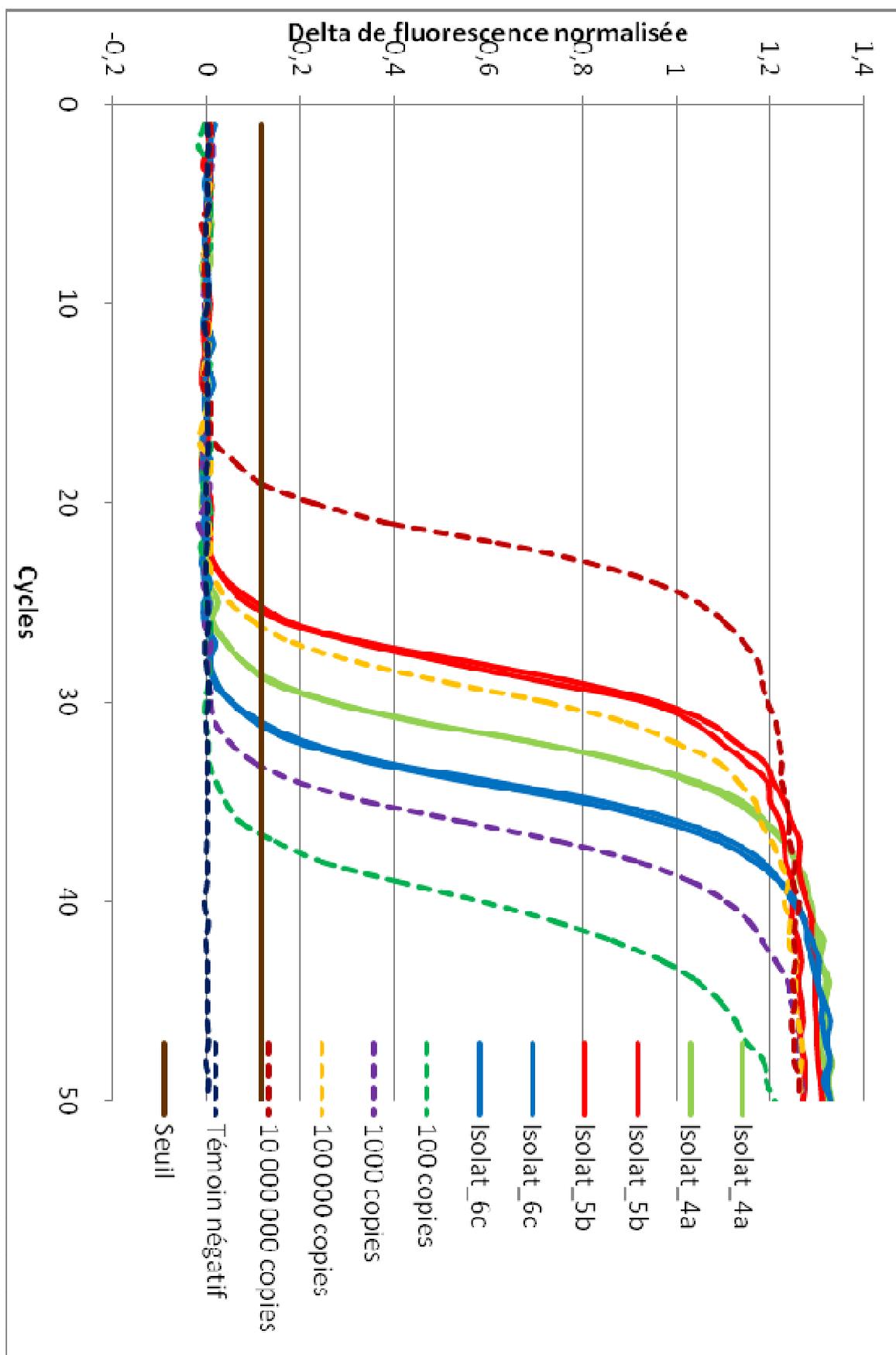
PROPRIETES MICROBIOLOGIQUES

- **Bactéricide** à très large spectre : gram +/-, spores bactériennes, mycobactéries,
- **Fongicide** : micro- champignons, moisissures, levures, spores et mycélium,
- **Virucide**,
- Actif en eau dure et en présence de matières protéiques,
- Pas d'accoutumance des micro-organismes,
- Dilué jusqu'à 10% dans l'eau, répond aux normes de désinfection **NFT 72151, 72171 et 72190**,
- DL 50 du produit concentré par voie orale chez le rat = supérieure à 2000 mg/kg,
- Irritation primaire cutanée du produit concentrée : non irritant.

SECURITE

- Non irritant,
- **DESOGERME VIREX** n'est pas soumis à la législation d'étiquetage issue du Code du Travail, et autre que l'inflammabilité,
- Ne pas utiliser en présence de flamme : feu, cigarettes, étincelles...,
- Conserver les récipients bien fermés et à l'écart de toute source d'ignition,
- En cas de contact oculaire, laver à grande eau,
- Le rejet à l'égout n'est pas autorisé.

ANNEXE 5 : ILLUSTRATION GRAPHIQUE DES RT-PCR



ANNEXES 6 : MATERIEL ET METHODES EMPLOYEES POUR TOUTES LES ANALYSES CLINIQUES EFFECTUEES

ANNEXE 6a : VIROLOGIE

Identification de calicivirus félin par PCR en temps réel

Les échantillons collectés à partir des cas cliniques de l'ENVT ont été transmis au département d'analyses du laboratoire Scanelis (France), afin de réaliser une recherche de calicivirus félin par RT-PCR en temps réel. Les charges virales des différents échantillons ont également été quantifiées dans le même laboratoire.

Extraction d'acide nucléique, amplification du gène de capsid et séquençage

De l'ARN total a été extrait des différents échantillons (sang, plasma, raclages cutanés, prélèvements oropharyngés, cellules conjonctivales) grâce au NucleoSpin RNA Virus Kit (Macherey-Nagel®) en suivant les instructions du fournisseur.

Afin de définir les liens éventuels des isolats de FCV obtenus à partir des différents chats impliqués dans l'épidémie, des amorces ont été élaborées pour permettre d'amplifier la totalité du gène de capsid du FCV par RT-PCR. Les séquences de calicivirus félins, disponibles dans la base de données, ont été alignées pour permettre l'élaboration d'amorces dégénérées. Les RT-PCR touchdown (FCVCapseq1F: tgatgtgtcgaagtttgag + FCVCapseq1R: agtrtcaatyaacccyarwattgaa) ont été effectuées sur les échantillons d'ARN grâce au kit Qiagen One Step® RT-PCR dans les conditions suivantes : 5 µl d'échantillon d'ARN, 10 µl 5x de tampon, 2 µl dNTPs (10 mM chacune), 3 µl de chaque amorce (10µM), 2 µl RT/Taq mix dans 50 µl de volume total. Les cycles de la RT-PCR touchdown répondaient aux paramètres suivants : 50°C 30 min. / 95 °C 15 min. / 5x[94 °C 20 sec. / 62 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 5x[94 °C 20 sec. / 60 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 40x[94 °C 20 sec. / 58 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 72 °C 5 min. Les RT-PCRs (FCVCapseq 2F: gggtacacaggaattggaga + FCVCapseq2R: taagggtcaaccctgaatc; FCVCapseq3F: gcaaaatcctcttaagcaa + FCVCapseq2R) ont été effectuées de la même façon que précédemment avec cependant les modifications suivantes dans les températures d'hybridation : 62, 60 et 58°C changées respectivement en 58, 56 et 54°C.

Les RT-PCRs d'amplifications de la région E du gène de capsid du FCV (FCVCapseq4F: caatcgacattggactgaya + gatacacggcagadgartct) ont été effectuées dans les mêmes conditions que les précédentes RT-PCRs à l'exception des modifications suivantes concernant les conditions des cycles : 50°C 30 min. / 95 °C 15 min. / 5x[94 °C 20 sec. / 56 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 5x[94 °C 20 sec. / 54 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 5x[94 °C 20 sec. / 52 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 30x[94 °C 20 sec. / 50 °C 20 sec. / 72 °C 2 min.] / 72 °C.

Les produits de la PCR ont été clonés au besoin dans un pGEM®-T phagemid Vector Systems (Progema), en suivant les recommandations du fournisseur, puis ces produits ont été séquencés (Millegen, Labège, France). Les analyses bioinformatiques (assemblages des contigs, alignements des séquences) ont été effectuées à l'aide du logiciel Vector NTI (Invitrogen Ltd, Paisley, UK) et les amorces ont été élaborées grâce au software en ligne Primer-3 [8]

ANNEXE 6b : ANALYSES BIOCHIMIQUES, SANGUINES ET URINAIRES

Les analyses biochimiques et sanguines ont toutes été réalisées au laboratoire central de l'ENVT. Une fois les prélèvements sanguins effectués, ils ont été identifiés par le numéro de l'animal correspondant puis enregistrés.

Pour les analyses biochimiques, les prélèvements étaient réalisés sur héparinate de lithium. Une fois au laboratoire, ils étaient centrifugés à 4000 tours par minute pendant 5 minutes. La centrifugeuse employée était de modèle Rotofix 32A (Hettich®). Une fois la centrifugation terminée, le plasma était séparé puis mis dans un tube Eppendorf. Le plasma était analysé grâce à la machine Vitros 250 de marque Ortho-clinical Diagnostics®, grâce à une technique de chimie sèche. Une fois les analyses terminées, l'Eppendorf était stocké à -20°C puis conservé, pendant un an au laboratoire, puis encore un an supplémentaire dans le service de biochimie à l'ENVT.

Les prélèvements nécessaires aux analyses hématologiques étaient réalisés sur EDTA bipotassique. Chaque tube était observé afin de détecter la présence d'un éventuel caillot. Les tubes contenant un ou plusieurs caillots étaient éliminés. L'heure d'arrivée des tubes était notée avant de les placer 20 minutes sur un agitateur Speci-mix 2 de marque Drew®. Les tubes étaient récupérés et agités manuellement et délicatement, par retournements successifs, une vingtaine de fois. Ils étaient ensuite analysés par une machine Vet abc de la marque Scill. Pendant ce temps était effectuée une micro hématocrite de contrôle, sur chaque prélèvement, à l'aide de la centrifugeuse Haematokrit 210 de marque Hettich®. L'échantillon tournait à 1300 tours par minute pendant 3 minutes. Le résultat obtenu était comparé au résultat donné par la machine, s'il y avait plus de 5 % d'écart entre les deux, l'hématocrite obtenu manuellement était considérée comme la référence. De plus, si le résultat de l'hématocrite manuel était inférieur à 24 % ou que la concentration en hémoglobine obtenue en machine était inférieure à 8 grammes par décilitre, une mesure du taux de réticulocytes est effectuée. Les tubes hématocrites étaient conservés 24 heures à température ambiante puis jetés.

Afin d'obtenir les formules sanguines, le tube de prélèvement était agité manuellement en le retournant, une vingtaine de fois. Le frottis était effectué en déposant une goutte de sang sur une lame et en l'étalant à l'aide d'une lamelle rodée. La coloration de May-Grünvald Giemsa et était effectuée à l'aide d'une machine Aerospray de marque Wescor®. Une fois la coloration terminée, la formule leucocytaire était établie sur 100 cellules et un examen morphologique du frottis était également effectué. Toutes les lames d'analyses hématologiques sont conservées pendant sept ans.

Une fois tous les résultats validés, les feuilles étaient photocopiées et archivées. Tous les tubes EDTA étaient gardés 24 heures à température ambiante puis jetés.

Les analyses urinaires étaient réalisées par la personne en charge de l'animal concerné. L'urine était prélevée par cystocentèse. Les analyses comprenaient la mesure de la densité urinaire au

réfractomètre. Le réfractomètre était d'abord étalonné grâce à de l'eau distillée puis quelques gouttes d'urine étaient disposées sur le réfractomètre et la densité mesurée. L'analyse était complétée par la réalisation d'une bandelette urinaire. Avec une pipette, une goutte d'urine était déposée sur chaque plage réactive de la bandelette en évitant que les gouttes de chaque plage fusionnent entre elles. Les résultats étaient lus, et reportés sur la fiche d'analyse d'urine. Cette analyse était systématiquement complétée par la réalisation d'une réaction de Heller. Dans un tube à essai neuf, on versait quelques millilitres d'acide nitrique puis environ la même quantité d'urine, de façon délicate et en inclinant le tube pour ne pas que les deux liquides se mélangent. Le résultat se lisait à la jonction des deux liquides en mettant le tube sur fond clair puis sur fond sombre afin d'être sûr de pouvoir détecter la présence d'un anneau. La réaction était considérée comme positive lorsqu'un anneau blanc laiteux, signalant la présence de protéines, se formait à la jonction des deux liquides, En fonction de l'importance de l'anneau, on évaluait de façon semi-quantitative l'intensité de la protéinurie.

Exploration de la coagulation plasmatique :

Temps de céphaline avec activateur

Il s'effectue avec du **plasma citraté**, obtenu par centrifugation (5000 t/min, 5 min) d'un tube de sang citraté. Il explore la voie intrinsèque et la voie commune de la coagulation.

1. Brancher le bain marie **après avoir vérifié qu'il y a de l'eau dedans**, environ jusqu'au 3/4. Sinon, en rajouter. L'allumer. Ne pas toucher le thermostat. Attendre qu'il chauffe jusqu'à atteindre 37°C (vérifier sur le thermomètre).
2. Sortir le Chlorure de Calcium (CaCl_2 0,025 M, flacon de 15 mL, Diagnostica Stago) du réfrigérateur et les réactifs du CK Prest (Diagnostica Stago) du réfrigérateur. Vérifier qu'ils ont été reconstitués depuis moins de 7 jours. Sinon, les reconstituer suivant les indications fournies par le fabricant. Il faut alors attendre après reconstitution 30 min à température ambiante avant de les utiliser.
3. Mettre 150 à 200 μL de CaCl_2 dans un tube à hémolyse et le mettre à incuber dans le bain marie quelques instants. Mettre le plasma à incuber dans un tube à hémolyse ; mettre également 100 μL exactement de CK prest à incuber 2 à 4 min à 37°C dans un **tube en verre**.
4. Mélanger 100 μL de plasma citraté à 37°C avec les 100 μL de CK prest. Déclencher un chronomètre et laisser incuber 3 min.
5. Préparer le crochet à hémostase, le chronomètre et 100 μL de CaCl_2 à 37°C.
6. Mélanger les 100 μL de CaCl_2 au mélange plasma-CK prest et déclencher le chronomètre immédiatement. Plonger le crochet dans le tube et l'agiter afin de regarder si un caillot se forme au bout. Dès qu'un caillot est visualisé, arrêter le chronomètre.

Valeurs usuelles ENVT chez le chien et le chat : coagulation entre 10 et 14s.

Temps de Quick

Il s'effectue avec du **plasma citraté**, obtenu par centrifugation (5000 t/min, 5 min) d'un tube de sang citraté. Il explore la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation.

1. Brancher le bain marie **après avoir vérifié qu'il y a de l'eau dedans**, environ jusqu'au 3/4. Sinon, en rajouter. L'allumer. Ne pas toucher le thermostat. Attendre qu'il chauffe jusqu'à atteindre 37°C (vérifier sur le thermomètre).
2. Sortir le réactif (Néoplastine calcique, Diagnostica Stago). Vérifier qu'il a été reconstitué depuis moins de 7 jours. Sinon, le reconstituer suivant les indications fournies par le fabricant. Il faut alors attendre après reconstitution 30 min à température ambiante avant de l'utiliser.
3. Mettre 200 µL de Néoplastine dans un **tube en verre** et le mettre à incuber dans le bain marie quelques instants. Mettre le plasma à incuber dans un tube à hémolyse.
4. Préparer le crochet à hémostase, le chronomètre et 100 µL de plasma à 37°C.
5. Mélanger les 100 µL de plasma citraté à 37°C avec les 200 µL de Néoplastine et déclencher le chronomètre immédiatement. Plonger le crochet dans le tube et l'agiter afin de regarder si un caillot se forme au bout. Dès qu'un caillot est visualisé, arrêter le chronomètre.

Valeurs usuelles ENVT: entre 6 et 8s chez le chien et entre 8 et 10 s chez le chat.

ANNEXE 6c : ANALYSES CYTOLOGIQUES DES EPANCHEMENTS

Les prélèvements destinés à une analyse histologique sont prélevés dans un tube EDTA. Une fois arrivé, le prélèvement se voit attribué un numéro propre.

Cellularité : avant d'effectuer le comptage cellulaire en cellule de Malassez, on utilise le kit Unopette® sur le prélèvement ce qui permet de lyser les globules rouges et de compter plus facilement les plaquettes et les globules blancs. Les cellules de Malassez sont marquées avec un quadrillage de 10 cases de côté, un carré contenant 1 μL ce qui permet un comptage plus facile.

Concentration en protéines : le prélèvement est placé dans un tube sec puis centrifugé à 4000 tours par minute pendant 5 minutes. Une goutte du surnageant est placée dans le refractomètre et le résultat est lue dans la plage protéine.

Si la concentration en protéines est inférieure à 25 g/L et la cellularité inférieure à 1000 cellules par μL alors l'épanchement est considéré comme un transsudat pur.

Si la concentration en protéines est entre 25 et 50 g/L et la cellularité entre 1000 et 8000 cellules par μL alors l'épanchement est considéré comme un transsudat modifié.

Si la concentration en protéines est supérieure à 30 g/L et la cellularité supérieure à 3000 cellules par μL alors l'épanchement est considéré comme un exsudat.

Analyses particulières : Si l'épanchement est rouge sang, un micro hématocrite est effectué sur l'épanchement et le sang.

Si l'épanchement est jaune, la créatinine est dosée dans le sérum et sur l'épanchement prélevé sur tube sec et centrifugé.

Dans le cas où l'épanchement est de couleur verte, marron ou orange fluorescent, la bilirubine est dosée dans le sérum et dans le liquide d'épanchement prélevé sur tube sec et centrifugé.

Préparation de lames directes : si le prélèvement est très épais, prendre une goutte du liquide d'épanchement prélevé sur EDTA et la déposer sur plusieurs lames. Etaler par écrasement et étirement (même technique que pour le frottis sanguin).

Si le prélèvement est épais, centrifuger l'épanchement prélevé sur EDTA puis jeter le surnageant. Resuspendre délicatement le culot. Prendre à l'aide d'une pipette une goutte du culot et la placer sur plusieurs lames. Etaler par écrasement et étirement.

Dans les deux cas, effectuer deux lames au moins.

Cytocentrifugation : pour cela, on utilise des buvards blancs. 50 μL du liquide d'épanchement sont déposés dans deux puits d'une lame prévue à cet effet. Une double lame est effectuée par

épanchement. Les lames sont placées dans la machine Cytopro® 7150 Hématologie. Le programme pour les épanchements effectue 1000 tours par minute pendant 5 minutes.

Fixation, coloration, montage : La fixation se fait par agitation des prélèvements jusqu'à séchage complet. Eventuellement le sèche-main est utilisé en prenant la précaution de placer les lames à bonne distance de la source chaude. Avant de colorer les lames, il faut attendre un séchage complet des lames. La coloration est effectuée grâce à la machine Aerospray® Pumps de Wescor. Le programme effectue une coloration de May-Grünwald Giemsa.

Le montage des lames ne peut s'effectuer qu'une fois que les lames sont parfaitement sèches. Tout d'abord elles sont trempées 10 minutes dans un mélange de toluène et d'oxyde de propylène. De la colle Histolaque® est pulvérisée sur la lame et une lamelle de la même taille que la lame est fixée dessus permettant ainsi sa protection et son archivage.

La lecture à faible grossissement (x 100 ou x 200) permet d'apprécier la qualité et de rechercher les amas de grande taille. La lecture à grossissement moyen (x 400) permet l'analyse du fond de frottis. Enfin l'examen du prélèvement à fort grossissement (x 1000) permet de réaliser la formule sur 100 leucocytes et d'apprécier la morphologie des cellules ainsi que de rechercher des éléments positifs (germes etc.).

ANNEXE 6d : AUTOPSIES

Des autopsies ont été pratiquées à L'ENVT pour les cas de Lolita et de Chouchou.

Le matériel employé lors d'autopsies était une table, des outils de dissection (scalpel, pinces..), des protections (gants, blouse), des récipients pour les prélèvements éventuels.

Avant de procéder à l'autopsie proprement dite, l'identification de l'animal à autopsier, les commémoratifs le concernant, ainsi que la date de sa mort étaient vérifiés. Dans les deux cas, l'autopsie a été réalisée le lendemain de la mort de l'animal. Durant ce laps de temps, les cadavres ont été conservés à une température de 4 °C.

Tout d'abord, l'animal subissait un examen externe minutieux comprenant l'inspection de la peau, des phanères, des masses musculaires, adipeuse et des nœuds lymphatiques superficiels de la carcasse, des oreilles, du nez, des yeux, de la cavité buccale, de l'appareil urogénital et de l'anus, et des articulations.

L'animal étant attaché en décubitus dorsal, une incision cutanée longitudinale médiane allant du menton au périnée était pratiquée, puis deux incisions sur la face interne des membres postérieurs. Le dépouillement cutané permettait d'observer les plans sous cutanés dans la région ventrale. La cavité abdominale était ensuite ouverte par une incision longitudinale le long de la ligne blanche puis par deux incisions transversales suivant le cercle de l'hypochondre. Tout épanchement abdominal était noté et prélevé.

Pour permettre d'ouvrir la cavité thoracique, les muscles pectoraux étaient sectionnés de part et d'autre du sternum, le faisceau vasculo-nerveux dans le creux axillaire était ligaturé puis sectionné. Les veines jugulaires étaient disséquées vers le bas de l'encolure puis ligaturées et sectionnées. Puis, le diaphragme était percé et désinséré le long du cercle de l'hypochondre. La section des côtés était réalisée à l'aide d'un costotome à mi hauteur. Là encore, toute présence d'un épanchement était notée.

Suite à ces deux étapes, les organes abdominaux et thoraciques étaient observés in situ et leur forme, couleur, volume, position, l'existence de masses ou d'adhérences étaient notés. L'étape suivante était l'éviscération : l'ensemble langue, larynx, pharynx, trachée et œsophage était détaché puis les organes thoraciques, le diaphragme dans sa position dorsale les viscères abdominaux.

Chaque organe était alors séparé et analysé individuellement. L'œsophage était séparé de la langue et du diaphragme. Le mésentère était détaché de son insertion sur la séreuse digestive puis l'ensemble du tube digestif était ouvert et disposé sur la table. Les nœuds lymphatiques mésentériques étaient sectionnés. Le foie était séparé du diaphragme, examiné en surface puis après une coupe. L'appareil cardiorespiratoire était ensuite examiné : d'abord le médiastin et le thymus, puis le cœur était séparé du poumon. Le péricarde était inspecté, désinséré et éventuellement, un liquide d'épanchement péricardique pouvait être collecté à ce moment là. Le cœur était ensuite ouvert. L'exploration de l'arbre

respiratoire se commençait par l'incision de la trachée et des bronches de gros calibre. Le parenchyme pulmonaire était inspecté, palpé et des sections symétriques étaient effectuées. On recherche également les nœuds lymphatiques trachéobronchiques.

Concernant le tractus urogénital, l'appareil urinaire était séparé. Les reins étaient décapsulés et sectionnés en deux longitudinalement. La vessie était ouverte après avoir collecté l'urine au moyen d'une seringue et d'une aiguille. Chez les femelles, les bourses ovariennes étaient ouvertes et les ovaires sectionnés longitudinalement. Les cornes utérines et le vagin étaient incisés.

Le système nerveux central et la moelle épinière ne sont pas examinés systématiquement et ne l'ont pas été dans les cas qui nous concernent.

Une fois l'autopsie effectuée, chaque organe était évalué selon des critères tels que sa forme, sa couleur, sa taille, son aspect (en surface, à la coupe), sa consistance (hétérogène, homogène), son contenu (quantité, nature), son odeur éventuelle, sa localisation anatomique, et toute particularité éventuelle. L'ensemble de ces informations était rapporté sur la fiche d'autopsie puis était traité afin de permettre l'élaboration d'un diagnostic lésionnel (lésion grave, mineure, non lésion, localisation, ancienneté...). La synthèse de toutes ces informations aboutissait à la formulation d'un bilan lésionnel et d'une conclusion établissant les lésions majeures (retenues comme significatives pour la conclusion), leur ordre chronologique d'apparition et enfin les liens éventuels de causalité.

ANNEXE 6e : PRELEVEMENTS HISTO-PATHOLOGIQUES

Les prélèvements effectués lors de l'autopsie arrivent au laboratoire avec une fiche de commémoratifs et sont alors enregistrés avec un numéro qui leur est propre. Ce numéro est doublement archivé dans un cahier d'une part et informatiquement d'autre part.

Le prélèvement est laissé au minimum 24 heures dans le formol pour permettre une bonne fixation du prélèvement. La qualité de la lame va dépendre en partie de la bonne fixation du prélèvement par le formaldéhyde. Une fois que le prélèvement est correctement fixé, il est traité sur la table de recoupe où il va être mis en cassette. Si le prélèvement est trop gros pour rentrer correctement dans la cassette, il va être découpé et mis dans plusieurs cassettes. Le numéro suit le prélèvement et est inscrit sur les cassettes. Une fois la mise en cassette effectuée, les prélèvements sont remis dans le formol.

Par la suite, les cassettes vont être mises dans un panier et vont suivre un cycle dans l'automate Microm® HMP 110 qui va entraîner la déshydratation des prélèvements pour permettre leur mise en bloc ultérieure. Le cycle dure environ 15 heures et comprend des bains successifs : un passage dans du formol, puis un bain contenant de l'eau, un bain d'alcool à 80 degrés, puis trois bains d'alcool à 95 degrés, deux bains d'alcool absolu, deux bains de toluène et enfin deux bains de paraffine liquide.

Une fois la déshydratation du prélèvement terminée arrive l'étape de l'enrobage. Pour cela, on utilise des machines de marque Microm® : thermal consol (maintient les moules utilisés à bonne température), dispensing consol (maintient la paraffine à 60°C et permet sa répartition dans les moules grâce à un petit robinet) et cryo-consol (permet le refroidissement des blocs de paraffine contenant les prélèvements). Les cassettes sont placées dans des moules en inox de bon format, puis le moule est rempli avec de la paraffine liquide. C'est à ce moment là que le prélèvement est orienté au mieux en vue de la coupe qui va suivre. Puis le moule est mis sur la cryo-consol pour son refroidissement et la prise en masse du prélèvement. Le bloc est prêt quand il se démoule sans difficulté.

Le bloc est ensuite placé dans le microtome Microm® HM 325 et découpé en fine tranches dont l'épaisseur peut être réglée (1 à 5 µm). Les tranches ainsi obtenues sont ensuite déposées sur un bain-marie à 30-40 °C. Ceci permet de « défriper » les coupes. De l'albumine glycinée est déposée sur une lame et avec celle-ci, on récupère le prélèvement dans le bain marie. Le numéro du prélèvement est reporté sur la lame. Les lames sont disposées sur un portoir et mis à l'étuve à 40 °C. Avant de procéder à la coloration, le séchage doit durer au minimum une heure. Le prélèvement doit être bien sec avant de le colorer.

La coloration de base utilisée pour les prélèvements d'anatomie pathologie est l'hémalun éosine. Les différentes étapes ont pour but de réhydrater le prélèvement pour permettre aux colorants

de se fixer sur le prélèvement puis de le déshydrater de nouveau pour permettre le montage final de la lame. Tout d'abord, la lame est plongée 5 minutes dans le toluène pour permettre le déparaffinage. La réhydratation s'effectue comme suit : 5 minutes dans de l'alcool absolu, 5 minutes dans de l'alcool à 95°C, 5 minutes sous l'eau du robinet. Enfin les dernières étapes permettent la coloration et le montage de la lame. Tout d'abord elle passe 30 à 50 secondes dans le colorant hémalum (bleu – hémalum de MAYER, réactif de RAL) puis rinçage à l'eau et ajout de 3 gouttes d'ammoniaque. Puis 20 secondes dans le colorant éosine (à 2%), suivies d'un rinçage rapide dans des bains d'eau. Enfin on procède à la redéshydratation du prélèvement en le passant dans l'alcool à 95°C qui va permettre de décolorer l'éosine, puis dans un bain d'alcool absolu et enfin dans le toluène (20 à 30 secondes dans chacun de ses derniers bains). Pour finir, les lames sont recouvertes de colle qui va se mêler au toluène et va permettre la fixation d'une lamelle qui va protéger le prélèvement et permettre sa conservation sur le long terme.

BIBLIOGRAPHIE

1. Perderson 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. *Vet. Microbiology*, 2000, **73**, 281 – 300
2. Hurley F.K., Pesavento A.P., Perderson C. *et al.*, An outbreak of virulent systemic feline calicivirus disease. *JAVMA*, Jan 2004, **224 n°2**, 241 – 249
3. Coyne K.P., Jones B.R.D., Kipar A. *et al.*, Lethal outbreak of disease associated with feline calicivirus infection in cats. *the Vet. Rec.*, April 2006, **158 (16)**, 544 – 550
4. Foley J., Hurley K., Pesavento A.P. *et al.*, Virulent systemic feline calicivirus infection : local cytokine modulation and contribution of viral mutants. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2006, **8**, 55 – 61
5. Pesavento A.P., MacLachlan N.J., Dillard- Telm L. *et al.*, Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats. *Vet Pathol*, 2004, **41**, 257-263
6. Hurley F.K., Sykes E.J., Update on feline calicivirus : new trends. *Vet Clin Small Anim*, 2003, **33**, 759 – 772
7. Predric W. S., Virucidal disinfectants and feline viruses. *Am J Vet Res*, 1979, **Vol 41, N°3**, 410 – 414
8. Rozen S. & Skaletsky H. J. (2000), Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*, pp.365-386. Edited by : S. Krawetz & S. Misener. Totowa: Humana Press.
9. Doultree JC, Druce JD, Birch CJ *et al.* Inactivation of feline calicivirus, Norwalk virus surrogate. *J Hosp Infect* 1999, **41**, 51-57
10. Thiel HJ., Konig M., Caliciviruses : an overview. *Vet Microbiol*, 1999, **69**, 55-62
11. Foley J. E. ; Calicivirus : Spectrum of Disease. John R. August, Consultations in Feline Internal Medicine volume 5, 650 pages
12. Gaskell R. M., Dawson S. and Radford A. , Feline Respiratory Disease. Craig E. Greene ; Infectious Diseases of the Dog and Cat. Third Edition, 1386 pages
13. Augustyniak Patrick, Didier, Michel, *Les calicivirus félin (FCV) : variabilité génétique et pathologique*, Toulouse, ENVT, Th. D, 2006, 75 p.

- 14.** 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.
- 15.** 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.
- 16.** Bittle J. L., Rubic W.J. Immunization against feline calicivirus infection. *American Journal of Veterinary Research* 1976, **37**, 275-278.
- 17.** Dick C.P., Johnson R.P., Yamashiro S., Sites of persistence of Feline calicivirus. *Research in Veterinary Science* 1989 ; **47**, 367 – 373
- 18.** Johnson R.P., Antigenic change in feline calicivirus during persistent infection. *Canadian Journal of veterinarian research* 1992, **56** , 326 – 330
- 19.** Lawler D.F., Evans R.H., Strategies for controlling viral infections in feline populations. *Consultations in feline internal medicine* 3, John R. August, 650 pages
- 20.** Wardley R.C., Feline calicivirus carrier state a study of the Host/ Virus relationship, *Archives of Virology*, 1976, **52** , 243 – 249
- 21.** Coutts A.J., Dawson S., Willoughby K. *et al.* Isolation of feline respiratory viruses from clinically healthy cats at UK shows. *The Veterinary Records*, 1994, **135**, 555 – 556
- 22.** Pedersen N.C., Laliberte L., Ekman S., A transient febrile « limping » syndrome of kittens caused by two different strains of feline calicivirus. *Feline practice*, 1983, vol. **13** n°1, 26 – 34
- 23.** Knowles J.O., Gaskell R.M., Gaskell G.J. *et al.*, Prevalence of feline calicivirus, feline leukaemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis. *The Veterinary Records*, 1989, **124** , 336 – 338
- 24.** 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.
- 25.** Pedersen N.C., Hawkins K.F., Mechanisms for persistence of acute and chronic feline calicivirus infections in the face of vaccination. *Veterinary Microbiology*, 1995, **47**, 141 – 156
- 26.** 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