

Vaccins rétroviraux : approche comparative en médecine humaine et vétérinaire

La mise au point d'un vaccin contre le SIDA constitue l'un des grands défis de la fin de ce siècle [1, 2]. Pourtant, après dix années de recherche, les perspectives de succès semblent toujours lointaines.

Les rétrovirus affectent aussi bien les animaux que les humains, et de nombreuses recherches portent sur la prévention des maladies qu'entraînent ces virus dans le bétail ou chez les animaux de compagnie. La confrontation des résultats obtenus sur les rétrovirus humains et animaux ne pourrait-elle aider à résoudre des problèmes communs, à imaginer des solutions ou à ouvrir de nouvelles voies de recherche [3]? D'où la proposition de l'un d'entre nous (G. de Thé) à la Fondation Mérieux de réunir les meilleurs experts des vaccins rétroviraux. Ces scientifiques se sont retrouvés les 23 et 24 juin dernier, au Centre de conférences des Pensières, au bord du lac d'Annecy, pour une réunion « sans frontière entre les deux médecines, humaine et vétérinaire ».

Un vaccin, oui, mais comment?

« Il n'existe pas d'alternative aux vaccins contre le VIH », affirmait Luc Montagnier (Unité d'oncologie virale, Institut Pasteur, Paris) en préambule aux discussions, « même s'il existe des approches complémentaires pour empêcher la dissémination de l'infection virale (modification des comportements sexuels, protection contre les maladies sexuellement transmissibles, prévention de l'hyperactivation du système immunitaire, traitements antiviraux...) ».

Les débats se sont articulés autour de cinq grandes questions, soulevées au cours de la table ronde initiale :

- Est-il possible de vacciner efficacement contre des rétrovirus?
- Le seul objectif est-il de protéger contre l'infection primaire ou bien faut-il tenter de protéger contre la maladie?
- Quels types de vaccins sont capables d'induire la meilleure protection?
- Quelles sont les bases immunologiques de la protection?
- La variabilité virale représente-t-elle un obstacle incontournable à la mise au point d'un vaccin contre le VIH?

Peut-on vacciner contre des rétrovirus?

L'immunoprophylaxie des infections rétrovirales est possible : la preuve en est fournie par la médecine vétérinaire. Des vaccins contre le FeLV (*Feline Leukemia Virus*) sont déjà commercialisés. Edward Hoover (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) a rappelé que les premiers essais s'étaient toutefois révélés difficiles : dans certaines circonstances, l'immunisation avec un FeLV inactivé ou avec des sous-unités virales augmentait la sensibilité à l'infection [4]. Mais les chats peuvent être protégés efficacement contre l'infection avec un canarypox exprimant les gènes *gag* et *env* du FeLV [5], ou avec un vaccin entier inactivé [4, 6] et contre la maladie avec des protéines purifiées (Gp70) associées à des adjuvants (*immunostimulating complex* ou Iscom) [7, 8] ou avec des protéines recombinantes [9] (Edward Hoover, USA ;

Oswald Jarrett, université de Glasgow, Royaume-Uni).

« Mais il est difficile de transposer les résultats obtenus avec le FeLV (un oncorétrovirus) au VIH (un lentirétrovirus) », soulignait O. Jarrett. « Ces deux types de virus possèdent des propriétés différentes. » Le FeLV se multiplie relativement lentement et son génome est relativement stable. Cette caractéristique distingue les oncorétrovirus des lentirétrovirus (voir *Tableau I et Encadré*). Les lentivirus, depuis ceux des petits ruminants jusqu'au VIH, accumulent les variations génomiques, ainsi que l'a exposé Jean-François Mornex (Inra et École nationale vétérinaire de Lyon). « En 100 000 ans d'infection dans le monde, le HTLV (*human T-cell leukemia virus*) a moins varié que le VIH en dix ans d'incubation chez un seul individu infecté » précisait Robin Weiss (*Chester Beatty Laboratories*, Londres).

Autre différence importante : l'infection lentirétrovirale naturelle conduit toujours à une infection persistante (*Tableau II*). C'est ce que l'on observe aussi bien pour les infections à virus Maedi-visna chez les ovins (Ian McConnell, université de Cambridge, Royaume-Uni) que pour les infections à EIAV (*equine infectious anemia virus*) chez les chevaux (Ronald C. Montelaro, *university of Pittsburgh School of Medicine*, PA, USA), ou pour les infections par le VIH chez les humains. En revanche, le système immunitaire peut parfois éliminer les oncorétrovirus, notamment le FeLV.

Cependant, bien que les chevaux infectés par l'EIAV le restent à vie, ils

Tableau I			
ONCORÉTROVIRUS			
Virus	Espèce hôte	Cellules/organes cibles	Proliférations tumorales
MuLV (<i>Murine leukemia Virus</i>)	Murins	Lymphocytes/Thymus	Lymphomes
FeLV (<i>Feline leukemia virus</i>)	Félins	Lymphocytes T/Thymus	Lymphosarcomes, lymphomes, immunodépression
BLV (<i>Bovine leukemia virus</i>)	Bovins, ovins	Lymphocytes B/Thymus	Leucémies, lymphomes
SRV (<i>Simian retrovirus</i>) (rétrovirus de type D)	Simiens	Lymphocytes T4	Sarcomes, carcinomes et immunodépression
HTLV-1/HTLV-2 (<i>Human T-cell leukemia virus</i>)	Humains	Lymphocytes T4/Thymus?	Leucémies, maladies dégénératives du système nerveux (paraparésie spastique tropicale)

Tableau II			
CARACTÉRISTIQUES PATHOGÉNIQUES DES LENTIRÉTROVIRUS			
Virus	Animal hôte	Cellules cibles/organes cibles	Maladie
Maedi-visna	Ovins	Macrophages, monocytes Poumon, SNC	Pneumonies interstitielles, leucoencéphalomyélites démyélinisantes progressives fatales
CAEV (virus de l'arthrite/encéphalite caprine)	Caprins	Macrophages Membranes synoviales, SNC	Arthrite, encéphalites
EIAV (virus de l'anémie infectieuse équine)	Équins	Macrophages, monocytes	Fièvre, diarrhées, anémie, thrombocytopénies régressives
FIV (virus de l'immunodéficience féline)	Félins	Cellules B, T4 + T8, macrophages	Déficit immunitaire
SIV (virus de l'immunodéficience simienne)	Simiens	Cellules T4, macrophages, monocytes	Déficit immunitaire
VIH (virus de l'immunodéficience humaine)	Humains	Cellules T4, macrophages, monocytes, cellules de Langerhans	Déficit immunitaire

Les rétrovirus infectieux sont à l'origine de maladies variées chez les animaux et chez l'homme: proliférations malignes du système hématopoïétique et conjonctif, immunodépressions, maladies auto-immunes, maladies neurodégénératives.

On classe généralement ces virus en deux grandes familles*: les rétrovirus oncogènes (ou oncorétrovirus) et les lentivirus.

• **Les rétrovirus oncogènes (ou oncorétrovirus)** sont associés à différents types de leucémies, de lymphomes, de sarcomes, d'épithéliomas, dans différentes espèces animales (Tableau I) et leur étude a mené à la découverte des oncogènes. Chez les humains, on a identifié un seul rétrovirus pathogène: le HTLV (human T-cell leukemia virus). Le HTLV-1 est responsable de leucémies T de l'adulte, répandues dans le sud du Japon et dans les Caraïbes [15, 16]. Ce même virus est également à l'origine d'un syndrome neurodégénératif, la paraparésie spastique tropicale, et de maladies auto-immunes (uvéites, arthrites, myosites, polymyosites). Le HTLV-2, isolé initialement chez un patient atteint de leucémie à tricholeucocytes, a été associé de façon sporadique à des symptômes neurologiques et hématologiques. Ce virus se propage chez les toxicomanes par voie intraveineuse.

• **Les lentirétrovirus** sont responsables de maladies dégénératives concernant le système immunitaire (déficits immunitaires, maladies auto-immunes) et le système nerveux central. Ils sont à l'origine de maladies pulmonaires et de maladies osseuses et articulaires chez les animaux. Chez l'homme, le VIH-1 et le VIH-2 sont à l'origine de l'épidémie mondiale de SIDA.

* Une autre classe de rétrovirus, les virus spumeux, n'a été associée à aucune maladie, même chez des hôtes immunodéprimés, bien que ces virus exercent un effet cytopathique sur les cellules en culture.

peuvent rester indéfiniment asymptomatiques. Les animaux sont alors remarquablement résistants à de nouvelles expositions au virus. Mais la maladie peut toutefois réapparaître à l'occasion d'un stress. Le système immunitaire est donc capable de protéger, sinon contre l'infection, du moins contre la maladie.

Protéger contre l'infection ou contre la maladie?

Pourra-t-on, par la vaccination, faire plus que la nature et protéger contre les infections lentivirales? C'est l'objectif que s'étaient initialement fixé les chercheurs pour le vaccin contre le SIDA... Mais d'après les résultats obtenus et d'après l'étude des modèles vétérinaires, il semble plus réaliste de rechercher une protection contre la maladie, sans empêcher totalement l'infection... à condition de pouvoir résoudre les problèmes de sécurité.

Quels types de vaccins?

De nombreuses approches vaccinales ont été testées. Divers vaccins prototypes ont permis d'obtenir une protection, soit contre l'infection, soit contre la maladie (Tableaux III et IV). Le groupe de Janice Clements (Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA) étudie, dans un modèle de mouton transgénique, le rôle de la glycoprotéine d'enveloppe dans la pathogénie du virus visna, ainsi que les possibilités de protection avec cet antigène.

Des résultats variables

Les réponses à la vaccination sont variables selon les espèces et selon le type de vaccin utilisé. Ainsi, le vaccin *vaccine-Env* du BLV (*bovine leukemia virus*) entraîne une protection chez les ovins (espèce sensible) mais pas chez les bovins, hôtes naturels du virus [10, 11] (A. Burny, université de Bruxelles, Belgique, Y. Ikawa, université de Tokyo, Japon). On n'a pas observé de protection contre le virus de l'immunodéficience féline (FIV) avec des protéines recombinantes produites dans *E. coli* ou dans des cellules d'insecte (O. Jarrett), probable-

ment du fait de l'absence de glycosylation correcte. De même, l'injection d'ADN codant pour plusieurs protéines de SIVmac (le virus de l'immunodéficience simienne du macaque) n'a permis de prévenir ni l'infection, ni la maladie, en dépit de l'induction d'une réponse CTL contre *Env* et *Gag*. (Harriett L. Robinson, University of Massachusetts Medical Center, Worcester, MA, USA).

Si l'injection du virus recombinant exprimant la protéine d'enveloppe du HTLV-1 est suivie de rappels effectués avec la glycoprotéine, la protection des lapins est abolie (G. Franchini, National Cancer Institute, Bethesda, USA). On a obtenu un vaccin efficace contre le FeLV avec un virus canarypox recombinant [5], alors qu'avec d'autres virus vecteurs (vaccin, virus herpès), aucun effet protecteur n'a été observé [12] (E. Hoover, O. Jarrett).

Les résultats obtenus dans les recherches vétérinaires vont dans le même sens que les recherches dans les modèles expérimentaux du SIDA: les virus vivants atténués semblent les plus aptes à protéger les animaux contre la maladie (Tableaux III et IV). Mais le problème de la sécurité de tels vaccins n'est pas encore résolu. S'il protège contre l'infection par le virus sauvage, le virus CAEV (virus de l'arthrite-encéphalite caprine) délété du gène *tat* conserve une certaine pathogénicité (R. Vigne Inserm, Marseille). Les virus délétés peuvent, à la suite de recombinaisons, retrouver leur pouvoir de multiplication (James Stott, National Institute for Biological Standard and Control, Potters Barr, Royaume-Uni). Les virus SIV (*simian immunodeficiency virus*) atténués par délétion des gènes *nef* et/ou *vpr* sont inoffensifs et protecteurs chez les macaques adultes [13], mais ils induisent la maladie lorsqu'ils sont administrés aux macaques nouveau-nés, comme l'a démontré Ruth Ruprecht (*m/s n°7, vol. 11, p. 1052*) [14] (Dana Farber Institute and Harvard Medical School, Boston, MA, USA). Ces observations l'ont conduite à introduire le concept de seuil de réplication virale et à proposer une nouvelle définition de l'atténuation virale. « En effet, expliquait R. Ruprecht, la pathogénicité rétrovirale ne devient apparente

Tableau III
VACCINS ANTI-ONCORÉTROVIRAUX

Approche vaccinale	MuLV	FeLV	BLV	SRV	HTLV
Virus entier inactivé		Protection contre l'infection et la maladie (mais risque de sensibilisation)		Protection contre l'infection	
Virus vivant atténué	Protection				
Vecteur recombinant exprimant des gènes rétroviraux	Vaccine-Env : protection partielle contre la maladie	Canarypox-Gag, Env : protection contre l'infection Herpes-Gag, Env : pas de protection Vaccine gp85 Env : pas de protection	Vaccine-Env gp 51 et/ou gp30 : Ovins : protection contre l'infection Bovins : pas de protection	Vaccine-Env gp70 et gp22 : protection contre l'infection	ALVAC-Env gp53 : protection partielle contre l'infection chez le lapin ALVAC-Env gp53 + rappels de gp53 : pas de protection
Sous-unités virales purifiées		Gp70-ISCOM : protection contre la maladie (Certains cas : Gp70 ou Gp85 : pas de protection ou sensibilisation)	Ovins : gp51 de BLV + adjuvant : protection contre l'infection		
Sous-unités virales recombinantes		rgp : protection ou absence de protection			
Corrélatés de l'immunité	Immunité cellulaire	Anticorps neutralisants ?	Anticorps neutralisants ?	Anticorps neutralisants	

MuLV : murine leukemia virus ; FeLV : feline leukemia virus ; BLV : bovine leukemia virus ; SRV : simian retrovirus ; HTLV : human T cell leukemia virus ; ALVAC : vaccin avec un virus canarypox atténué (société Virogenetics) ; rgp : glycoprotéines recombinantes ; ISCOM : immunostimulating complex.

que lorsque le taux de réplication virale dépasse un seuil donné. En dessous de ce seuil la réplication n'entraîne pas de maladie, même si le virus est totalement pathogène. En revanche, un virus faiblement répliquatif peut dépasser ce seuil chez des sujets permissifs (nouveau-nés, sujets immunodéprimés). »

Protection ou sensibilisation ?

La vaccination contre des rétrovirus peut même, dans certaines circonstances, faciliter l'apparition de la maladie lors d'un contact ultérieur avec le virus sauvage. E. Hoover a

rappelé que certains essais de vaccination contre le FeLV, avec un virus inactivé ou avec des glycoprotéines virales, avaient abouti à une augmentation de la sensibilité à l'infection. Chez le chat, l'infectivité du FIV sauvage a été augmentée après vaccination avec un vecteur vaccine recombinant exprimant la protéine d'enveloppe du FIV (Albert DME Osterhaus, Université Erasmus, Rotterdam, Pays-Bas). La vaccination de poneys avec une protéine recombinante (gp 90) d'ELAV favorise plutôt qu'elle n'inhibe l'infection (R.C. Montelaro). Des chèvres vaccinées avec un CAEV inactivé développent

une maladie plus sévère que les animaux non immunisés (Kalman Perk, université de Jérusalem, Israël).

Quels corrélats de l'immunité ?

Il est difficile de prévoir l'effet de la vaccination, en raison de l'absence de corrélats clairs de l'immunité. La protection naturelle contre le FeLV est liée à la présence d'anticorps neutralisants. Pourtant, les vaccins ayant prouvé leur efficacité n'induisent pas ou peu de ces anticorps. Dans d'autres cas, la vaccination induit une forte réponse anticorps, sans entraîner de protection.

Tableau IV

VACCINS ANTILENTIRÉTROVIRUS

Approche vaccinale	CAEV	MAEDI-VISNA	EIAV	FIV	SIV	VIH
Virus entier inactivé	Maladie plus sévère	OPPV : pas de protection contre l'infection	Virus homologue : 100 % de protection contre l'infection Virus hétérologue : protection contre la maladie	Protection contre l'infection	Protection contre la maladie à VIS avec VIH-2 inactivé	VIH-2 (chez le singe) Protection contre l'infection par virus homologue Protection contre la maladie par virus hétérologue
Virus vivant atténué	Mutation de <i>vif</i> : pas de protection Délétion de <i>tat</i> : protection partielle contre l'infection, pathogénicité résiduelle		Protection contre la maladie		VISmac1A11: protection contre la maladie Délétion de <i>nef</i> et de <i>vpr</i> : protection chez les adultes Induction de la maladie par le vaccin chez les nouveau-nés	
Virus recombinant	Vaccin-gp de env: pas de protection			Vaccin recombinant-Env-: pas de protection Maladie plus sévère	Vaccin-gp60 protection Vaccin-Nef: protection partielle contre la maladie Virus Semliki Forest recombinant-Env: pas de protection contre l'infection; protection partielle contre la maladie	NYVAC-Gag, Pol, Env de VIH-1: protection contre VIH-2 chez le macaque Rhésus
Sous-unités virales purifiées			Protection contre l'infection par virus homologue 50 % de protection contre la maladie avec virus hétérologue	Protéines Env: protection partielle contre l'infection (diminution de la charge virale)	+ adjuvant: protection partielle contre la maladie	
Sous-unités virales recombinantes			rgp90: pas de protection contre virus homologue ou hétérologue Facilitation	Protéines rEnv (produites dans <i>E. coli</i> ou baculovirus) pas de protection contre l'infection Env V3: pas de protection (ou augmentation)		Canarypox-VIH-2 (singe) protection contre l'infection (homologue) ou la maladie (hétérologue)
ADN viral plasmidique	ADN proviral avec délétion de <i>vif</i> : pas de protection Pas d'Ac				Gènes codant pour Gag p24, Env: diminution de la charge virale, pas de protection contre la maladie	
Corrélat d'immunité	Absence de protection en présence d'Ac	Absence de protection en présence d'Ac neutralisants	Lente maturation de la réponse humorale et cellulaire Ac non nécessaire	Anticorps neutralisants		

CAEV: virus de l'arthrite/encéphalite caprine; EIAV: virus de l'anémie infectieuse équine; FIV: virus de l'immunodéficience féline; SIV: virus de l'immunodéficience simienne; VIH: virus de l'immunodéficience humaine; OPPV: ovine progressive pneumonia virus (virus de la famille du virus maedi-visna). NY-VAC: vaccin par vecteur poxvirus atténué (société Virogenetics).

Selon R. Montelaro, les réponses protectrices suscitées par les vaccins entiers, vivants ou atténués, sont liées à l'induction d'anticorps de grande avidité, spécifiques des déterminants conformationnels, présentés par les glycoprotéines d'enveloppe du virus sous forme native. Les anticorps facilitants réagissent peu, en revanche, avec les protéines d'enveloppe natives, et reconnaissent essentiellement les déterminants antigéniques linéaires de ces protéines d'enveloppe. D'après les résultats observés dans la leucémie bovine, l'immunité humorale pourrait jouer un rôle majeur dans l'infection primaire, mais les anticorps seraient incapables d'éliminer le génome viral intégré dans l'ADN de l'hôte, sans immunité cellulaire (Y. Ikawa). Mais l'immunisation de singes macaques avec des lipopeptides correspondant aux épitopes T et avec des peptides antigéniques correspondant aux épitopes neutralisants du SIV n'ont pas permis de protéger les animaux contre l'infection, en dépit d'une réponse anamnétique (R. Kurth, Paul Ehrlich Institut, Langen, Allemagne).

S'il a été démontré que les anticorps neutralisants jouent un rôle majeur dans la protection des chimpanzés contre l'infection à VIH-1, une protection croisée contre le VIH-2 a été obtenue chez le macaque Rhésus en dépit de l'absence totale d'anticorps neutralisants contre le VIH-2 (Marc Girard, Institut Pasteur, Paris). Il est probable cependant, selon M. Girard, qu'il soit nécessaire d'obtenir à la fois une forte réponse en anticorps neutralisants et une forte réponse T cytotoxique pour avoir un vaccin réellement efficace.

Est-il possible de vacciner contre des virus hétérologues ?

Faudra-t-il incorporer, dans les vaccins contre le VIH, des antigènes des différents sous-types qui infectent les différents groupes à risque ? En effet, comme l'a exposé Max Essex (*Harvard AIDS Institute*, Boston, MA, USA), trois grands sous-types de VIH-1 infectent la population : le sous-type B se trouve essentiellement dans les pays occidentaux tandis que le VIH-C est prévalent en Afrique. En Asie, le VIH-

E est en train de supplanter le sous-type C. Ces différents sous-types semblent adaptés aux différentes voies de transmission : hétérosexuelle pour les sous-types C et E, qui infectent en priorité les cellules de Langerhans (nombreuses au niveau du vagin, du col de l'utérus et du pénis) ; voie homosexuelle et voie sanguine pour le sous-type B qui infecte préférentiellement les lymphocytes sanguins.

Mais on peut espérer protéger contre des virus hétérologues : selon les données présentées par G. Biberfeld (Karolinska Institute, Stockholm, Suède), l'injection de VIH-2 protège les singes *cynomolgus* contre la maladie causée par des virus hétérologues (SIVmac). Il pourrait en être de même chez l'homme. Max Essex a rappelé que l'infection par le VIH-2 entraînait un certain degré de protection contre le VIH-1 et Marc Girard a indiqué que la vaccination de singes Rhésus avec un vecteur recombinant contenant les gènes codant pour les protéines Gag, Pol et Env du VIH-1, suivie de l'injection de protéines d'enveloppe, entraînait une protection contre le VIH-2. Ainsi, il ne serait peut-être pas nécessaire de vacciner avec une souche virale étroitement liée à celles qui se propagent sur le terrain.

Des vaccins thérapeutiques ?

Est-il possible, dans une première étape, d'envisager un vaccin thérapeutique, d'action plus immédiate et plus facile à tester en clinique ? Mais leur formulation pourrait être différente de celle des vaccins prophylactiques, soulignait Stanley Plotkin (Pasteur-Mérieux-Connaught). C'est ce qu'illustraient les résultats des études préliminaires présentés par A. Burny. Ces essais ont été mis en œuvre après la constatation qu'une augmentation des taux plasmatiques d'IFN- α précède l'apparition du SIDA. Des sujets séropositifs ont été vaccinés contre cette cytokine (avec un IFN- α émulsifié avec un adjuvant). Leur évolution s'est avérée plus favorable que celle des sujets témoins. Mais il est encore trop tôt pour que l'on puisse tirer des conclusions définitives de ces observations, réalisées sur un nombre limité de patients ■

Les résultats et discussions de cette réunion seront publiés très prochainement dans leur intégralité dans un numéro spécial de la revue *AIDS and Human Retroviruses*.

RÉFÉRENCES

1. Girard M. Vaccins contre le SIDA : espoirs et réalités. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 152-8.
2. Lévy JP. Le problème d'un vaccin contre le SIDA. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 407-19.
3. Schlienger K, Mancini M, Tiollais P, Michel M. Vaccination contre le SIDA : évaluation chez les primates. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 985-93.
4. Pedersen NC, Johnson L, Birch O, et al. Possible immunoenhancement of persistent viremia by feline leukemia virus envelope glycoprotein vaccines in challenge-exposure situations where whole inactivated virus vaccines were protective. *Vet Immunol Immunopathol* 1986 ; 11 : 123-8.
5. Tartaglia J, Jarrett O, Neil JC, Desmettre P, Paoletti E. Protection of cats against feline leukemia virus by vaccination with a canarypox recombinant ALVAC-FL. *J Virol* 1993 ; 67 : 2370-5.
6. Hoover EA, Perigo NA, Quackenbush SL, et al. Protection against feline leukemia virus infection by use of an inactivated virus vaccine. *J Am Vet Med Assoc* 1991 ; 199 : 1392-405.
7. Osterhaus A, Weijer K, UytdeHaag F, et al. Induction of protective immune response in cats by vaccination with feline leukemia virus ISCOM. *J Immunol* 1985 ; 135 : 591-6.
8. Osterhaus A, Weijer K, UytdeHaag F, et al. Serological responses in cats vaccinated with FeLV ISCOM and an inactivated FeLV vaccine. *Vaccine* 1989 ; 7 : 137-41.
9. Marciani DJ, Kensil CR, Beltz GA, et al. Genetically engineered subunit vaccine against feline leukemia virus: Protective immune response in cats. *Vaccine* 1991 ; 9 : 89-96.
10. Portetelle D, Limbach K, Burny A, et al. Recombinant vaccinia virus expression of the bovine leukemia envelope gene and protection of immunized sheep against infection. *Vaccine* 1991 ; 9 : 194-200.
11. Onuma M, Hodatsu T, Yamamoto S, et al. Protection by vaccination against bovine leukemia virus infection in sheep. *Am J Vet Res* 1984 ; 48 : 117-25.
12. Gilbert JH, Pedersen NC, Nunberg JH. Feline leukemia virus envelope protein expression encoded by a recombinant vaccinia virus: Apparent lack of immunogenicity in vaccinated animals. *Virus Res* 1987 ; 7 : 49-67.

