

## COMPORTEMENT D'UNE SOUCHE ATTÉNUÉE DU PIGEON HERPESVIRUS 1 ET DE SOUCHES PATHOGÈNES LORS D'INFECTIONS SUCCESSIVES CHEZ LE PIGEON

H. VINDEVOGEL, P.P. PASTORET et P. LEROY

*Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège,  
Services de Clinique aviaire, de Virologie et de Génétique,  
45, rue des Vétérinaires, 1070 Bruxelles, Belgique*

### Summary

BEHAVIOUR OF AN ATTENUATED STRAIN OF PIGEON HERPESVIRUS 1 AND PATHOGENIC STRAINS IN SUCCESSIVE INFECTIONS OF PIGEONS. — Behaviour in pigeons of an attenuated strain of *Pigeon herpesvirus 1* (PHV<sub>1</sub>) was studied. After the first infection, it multiplied in the animal to the same extent as the natural strain it was derived from but only provoked mild and irregular symptoms. It persisted in the animal after infection. Primary infection of the pigeon with a pathogenic strain of PHV<sub>1</sub> prevented recurrence of the disease after re-infection but did not significantly decrease viral dissemination and did not prevent spontaneous re-excretion of the virus.

Le *Pigeon herpesvirus 1* (PHV<sub>1</sub>) est l'agent infectieux le plus souvent associé aux maladies respiratoires du pigeon (Vindevogel et Pastoret, 1981a). Sa présence a été démontrée tant en France qu'en Belgique dans la plupart des colombiers (Vindevogel et Duchatel, 1978; Vindevogel *et al.*, 1981a, 1981b; Landré, non publié).

Le moyen le plus approprié pour aider à contrôler la maladie semble être la vaccination (Vindevogel *et al.*, 1982b) puisqu'à ce jour les essais de chimiothérapie de l'infection ont échoué (Schwers *et al.*, 1980, 1981; Vindevogel *et al.*, 1982a).

Une souche sauvage de PHV<sub>1</sub>, isolée en Belgique (Vindevogel *et al.*, 1975), a été atténuée (Vindevogel *et al.*, 1982b). Cette souche a perdu beaucoup de sa virulence pour la perruche alors que les souches sauvages provoquent normale-

ment une hépatite mortelle dans cette espèce (Vindevogel et Duchatel, 1977; Vindevogel *et al.*, 1980b). Cette souche atténuée reste cependant cliniquement légèrement pathogène pour le pigeon (Vindevogel *et al.*, 1982b).

Dès lors, il était nécessaire d'étudier le comportement de la souche atténuée chez le pigeon et de vérifier si, comme les souches sauvages (Vindevogel *et al.*, 1980a; Vindevogel et Pastoret, 1981a), la souche atténuée persiste chez l'animal après guérison de la primo-infection et est ré-excrétée spontanément ou expérimentalement.

Avant de proposer une souche atténuée comme vaccin, il était utile de déterminer dans quelle mesure une infection par une souche pathogène influence la multiplication ultérieure d'une autre souche sauvage et peut prévenir l'apparition de signes cliniques lors de réinfections successives.

## Matériel et Méthodes

### 1. Souches de virus

La souche pathogène utilisée pour la primo-infection est la souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 (Vindevogel *et al.*, 1975).

La souche pathogène utilisée pour les réinfections successives est la souche PHV<sub>1</sub>/Cz/236-69 (Krupicka *et al.*, 1970). La souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 a été atténuée par cent passages sur cultures de fibroblastes d'embryon de poule (Vindevogel *et al.*, 1982b).

### 2. Inoculation

Tous les pigeons ont été inoculés par badiage de la muqueuse pharyngée au moyen de 10<sup>5</sup> ufp (unités formant plaque) pour chaque souche.

### 3. Pigeons

Vingt pigeons âgés de cinq semaines, issus de parents indemnes de l'infection par le PHV<sub>1</sub>, ont été divisés en quatre groupes de cinq animaux.

— *Groupe I* (pigeons 1 à 5)

Les pigeons du groupe I ont été inoculés au jour 0 au moyen de la souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 atténuée. A partir du jour 56, chaque pigeon a reçu quotidiennement 10 mg de cyclophosphamide par voie intra-abdominale pendant quatre jours (Coignoul et Vindevogel, 1980 ; Vindevogel *et al.*, 1980a).

— *Groupes II* (pigeons 6 à 10), *III* (pigeons 11 à 15) et *IV* (pigeons 16 à 20).

Les pigeons du groupe II ont été inoculés au jour 0 à l'aide de la souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 initiale et pathogène.

Au jour 56, les pigeons des groupes II et III et, au jour 100, les pigeons des groupes II et IV ont été inoculés à l'aide de la souche PHV<sub>1</sub>/Cz/236-69.

### 4. Estimation des symptômes

L'enregistrement des signes cliniques a été fait de la manière suivante : — aucun signe clinique ; + congestion de la muqueuse buccale et pharyngée ; ++ apparition de foyers de nécrose dans la bouche et le pharynx ; +++ nombreux foyers de nécrose et présence d'ulcères dans la cavité buccale, le pharynx et le larynx (Vindevogel et Pastoret, 1981).

### 5. Titrage des particules virales infectieuses excrétées

La muqueuse pharyngée des pigeons a été écouvillonnée :

— aux jours 1 à 9, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 et 57 à 66 pour les groupes I et II ;

— aux jours 57 à 66 pour le groupe III ;

— aux jours 100 à 108 pour les groupes II et IV.

Le titre des particules infectieuses dans les écouvillons a été déterminé sur cultures de fibroblastes d'embryon de poule sous agarose (Vindevogel *et al.*, 1980a).

### 6. Titrage des anticorps

Du sang a été prélevé à tous les pigeons des groupes I et II aux jours 14, 21, 35, 56 et aux pigeons du groupe II au jour 100.

Les anticorps spécifiques ont été titrés par séro-neutralisation (Hoskins, 1967 ; Vindevogel *et al.*, 1982b) dans un « pool » de sérums pour chaque groupe à chaque prélèvement.

### 7. Analyse statistique des résultats

Afin de simplifier l'analyse statistique, les résultats du titrage des particules infectieuses dans les écouvillons ont été groupés en quatre périodes différentes :

Tableau 1. — Titres en anticorps dans les groupes I et II

	Jours				
	14	21	35	56	100
Groupe I	1/16	1/32	1/64	1/64	NT <sup>a</sup>
Groupe II	1/32	1/32	1/64	1/64	1/64

a : non testé

— Période a (du jour 1 à 14) : période de primo-infection pour les groupes I et II ;

— Période b (du jour 15 à 56) : période de ré-excrétions virales spontanées pour les groupes I et II ;

— Période c (du jour 57 à 66) : période de première ré-infection pour le groupe II et de primo-infection pour le groupe III ;

— Période d (du jour 101 à 108) : période de seconde ré-infection pour le groupe II et de primo-infection pour le groupe IV.

Par pigeon et pour chaque période, les titres des particules virales infectieuses excrétées ont été regroupés en une valeur moyenne. Ces valeurs ont été comparées par le test de Mann et Whitney entre les groupes I et II pour les périodes a et b, entre les groupes II et III pour la période c et entre les groupes II et IV pour la période d.

## Résultats

### 1. Comparaison du comportement de la souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 avant et après atténuation

Les taux individuels d'excrétion virale sont présentés dans les figures 1 et 2, les titres en anticorps au tableau 1 et l'intensité des symptômes au tableau 2.

Aucune différence significative n'a été observée entre les moyennes d'excrétion de particules infectieuses des groupes I et II pendant les périodes a et b, et les titres en anticorps ont été semblables dans les deux groupes.

Les pigeons du groupe II ont présenté pendant la période a, les lésions caractéristiques de la maladie, alors que seuls trois pigeons du groupe I ont présenté de légers symptômes. Pendant la période b, aucun symptôme n'a été observé.

### 2. Persistance de la souche PHV<sub>1</sub>/B/Cu<sub>1</sub>-74 atténuée chez le pigeon

Le traitement des pigeons du groupe I par la cyclophosphamide a été suivi chez quatre d'entre eux par une période de ré-excrétion de virus. Le cinquième n'a pas cessé d'excréter de virus depuis le jour 1 (fig. 1).

### 3. Infections successives au moyen de souches pathogènes

Situation après une première ré-infection (période c)

Tous les pigeons témoins (groupe III) ont présenté une infection primaire classique tant du point de vue des signes cliniques (tabl. 2) que de l'excrétion virale (fig. 2).

La ré-infection des pigeons du groupe II a été suivie chez trois d'entre eux par une période d'excrétion virale comparable, mais seul un d'entre eux a présenté de légers symptômes pendant deux jours (tabl. 2). Les deux autres pigeons du groupe II n'ont présenté ni symptômes, ni excrétion virale.

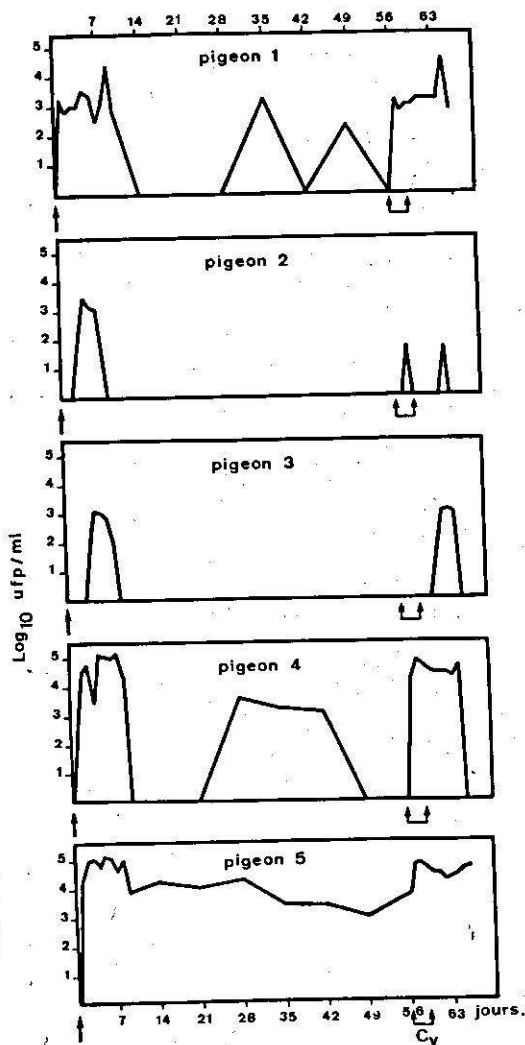


Fig. 1. — Excrétion du PHV<sub>1</sub> atténué par les pigeons du groupe I.

↑ inoculation

↔ traitement par la cyclophosphamide  
Cy

Tableau 2. — Intensité des symptômes

Groupes	Pigeons	Périodes			
		a	b	c	d
I	1	-	-	...	...
	2	+	-	...	...
	3	-	-	...	...
	4	+	-	...	...
	5	++	-	...	...
II	6	+++	-	-	+
	7	+++	-	+	-
	8	+++	-	-	-
	9	+++	-	-	-
	10	+++	-	-	-
III	11	...	...	+++	...
	12	...	...	+++	...
	13	...	...	+++	...
	14	...	...	+++	...
	15	...	...	+++	...
IV	16	...	...	...	+++
	17	...	...	...	+++
	18	...	...	...	+++
	19	...	...	...	+++
	20	...	...	...	+++

- : aucun signe clinique ; + : congestion de la muqueuse buccale et pharyngée ; ++ : foyers de nécrose dans la bouche et le pharynx ; +++ : nombreux foyers de nécrose et ulcères dans la bouche, le pharynx et le larynx.

Cependant, les moyennes des titres de particules infectieuses excrétées ne différaient pas significativement entre les deux groupes (II et III), bien que la différence soit très proche du seuil de signification 5 p. cent.

#### Situation après une seconde ré-infection (période d)

Une situation en tous points semblable à celle décrite pour la période c a été observée pendant la période d, tant pour le groupe témoin (IV) que pour le groupe soumis à une seconde ré-infection (groupe II) (tabl. 2 ; fig. 2).

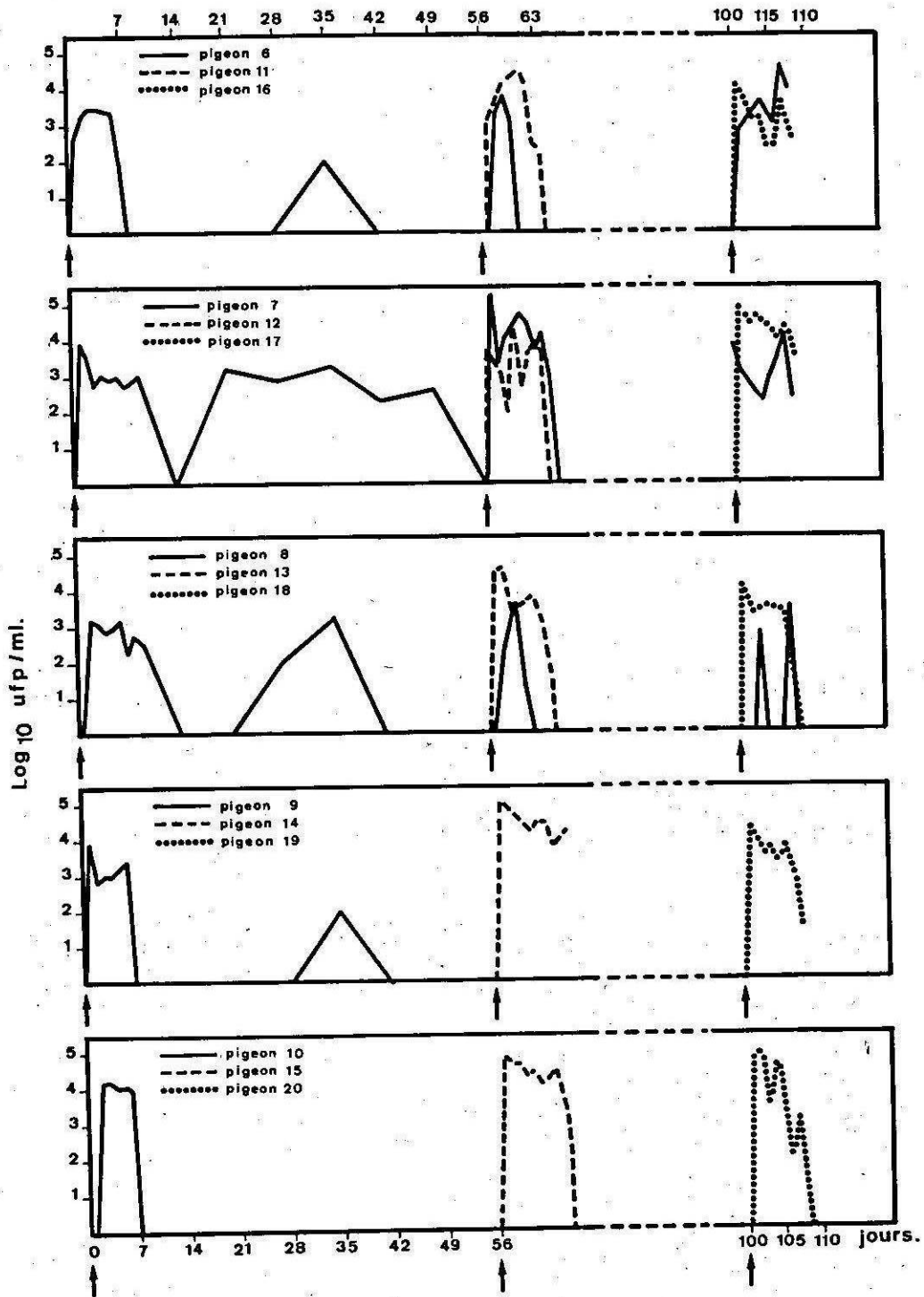
Il faut cependant signaler que le pigeon 7 ré-excrétait spontanément du virus avant la seconde ré-infection.

#### Discussion

Conformément à ce qui a été décrit précédemment (Vindevogel *et al.*, 1982b), la souche de *Pigeon herpesvirus 1* atténuée par cent passages en série sur cultures de cellules demeure encore légèrement pathogène pour le pigeon. Elle se multiplie tout autant chez le pigeon que la souche d'origine et, comme cette dernière, elle persiste chez le pigeon après la première infection ainsi que le démontre sa ré-excrétion après injection de cyclophosphamide.

Une infection préalable des pigeons par une souche pathogène de *Pigeon herpesvirus 1* les protège cliniquement lors d'une ré-infection par une souche similaire. La protection est parfois suffisante pour empêcher la multiplication virale

Fig. 2. — Excrétion du PHV<sub>1</sub> pathogène par les pigeons du groupe II (—), du groupe III (---) et du groupe IV (.....). † inoculations



après ré-infection chez certains animaux. Cependant, cette protection ne réduit pas significativement la dissémination du virus par l'ensemble des animaux ré-infectés. Mais, comme les souches de *Pigeon herpesvirus 1* ne peuvent être distinguées *in vitro*, il n'a pas été possible de préciser si, chez les pigeons 6, 7, 8, le virus titré

après les ré-infections était le virus initial ou celui d'épreuve, d'autant plus que le pigeon 7 ré-excrétait spontanément du virus avant la seconde ré-infection.

*Accepté pour publication, le 13 avril 1982.*

### Résumé

Le comportement chez le pigeon d'une souche atténuée de *Pigeon herpesvirus 1* a été étudié. Après une première infection, elle se multiplie tout autant chez l'animal que la souche sauvage dont elle dérive mais elle ne provoque que de légers symptômes de manière inconstante. Elle persiste chez l'animal après infection.

L'infection primaire du pigeon par une souche pathogène prévient la maladie lors d'une réinfection mais elle ne diminue pas significativement la dissémination du virus et elle n'empêche pas sa ré-excrétion spontanée.

### Références

- COIGNOUL F., VINDEVOGEL H., 1980. Cellular changes in the bursa of Fabricius and thymus of cyclophosphamide-treated pigeons. *J. Comp. Pathol.*, **90**, 395-400.
- HOSKINS J.M., 1967. *Virological Procedures*, pp. 258-260. Butterworths, London.
- KRUPICKA V., SMID B., VALICEK L., PLEVA V., 1970. Isolement sur la membrane chorio-allantoïdienne d'œufs embryonnés d'un virus herpès du pigeon (en tchèque). *Vet. Med. (Praha)*, **15**, 609-612.
- SCHWERS A., PASTORET P.-P., VINDEVOGEL H., LEROY P., AGUILAR-SETIEN A., GODART M., 1980. Comparison of the effect of trisodium phosphonofornate on the mean plaque size of pseudorabies virus, infectious bovine rhinotracheitis virus and pigeon herpesvirus. *J. Comp. Pathol.*, **90**, 625-633.
- SCHWERS A., VINDEVOGEL H., LEROY P., PASTORET P.-P., 1981. Susceptibility of different strains of pigeon herpesvirus to trisodium phosphonofornate. *Avian Pathol.*, **10**, 23-29.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., BURTONBOY G., GOUFFAUX M., DUCHATEL J.-P., 1975. Isolement d'un virus herpès dans un élevage de pigeons de chair. *Ann. Rech. Vét.*, **6**, 431-436.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., BURTONBOY G., 1980a. Pigeon herpes infection: excretion and re-excretion of virus after experimental infection. *J. Comp. Pathol.*, **90**, 401-408.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., LEROY P., COIGNOUL F., 1980b. Comparaison de trois souches de virus herpétique isolées de psittacidés avec le virus herpès du pigeon. *Avian Pathol.*, **9**, 385-394.
- VINDEVOGEL H., DAGENAIS L., LANSIVAL B., PASTORET P.-P., 1981a. Incidence of rotavirus, adenovirus and herpesvirus infection in pigeons. *Vet. Rec.*, **109**, 285-286.
- VINDEVOGEL H., KAECKENBEECK A., PASTORET P.-P., 1981b. Fréquence de l'ornithose-psittacose et de l'infection herpétique chez le pigeon voyageur et les psittacidés en Belgique. *Rev. Méd. Liège*, **36**, 693-696.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., AGUILAR-SETIEN A., 1982a. Assessment of phosphonofornate-treatment of pigeon herpesvirus infection in pigeons and budgerigars, and Aujeszky's disease in rabbits. *J. Comp. Pathol.*, **92**, 177-180.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., LEROY P., 1982b. Vaccination trials against pigeon herpesvirus infection (*Pigeon herpesvirus 1*). *J. Comp. Pathol.*, **92**, sous presse.
- VINDEVOGEL H., DUCHATEL J.-P., 1977. Réceptivité de la perruche au virus herpès du pigeon. *Ann. Méd. Vét.*, **121**, 193-195.
- VINDEVOGEL H., DUCHATEL J.-P., 1978. Contribution à l'étude de l'étiologie du coryza infectieux du pigeon. *Ann. Méd. Vét.*, **122**, 507-513.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., 1981a. Pathogenesis of pigeon herpesvirus infection. *J. Comp. Pathol.*, **91**, 415-426.
- VINDEVOGEL H., PASTORET P.-P., 1981b. Tauben-Herpesvirusinfektion (*Pigeon herpesvirus 1*) - ein Ueberblick. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **88**, 539-541.