

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

ESSAIS DE VACCINATION CONTRE L'INFECTION HERPÉTIQUE DU PIGEON (PIGEON HERPESVIRUS 1)

H. Vindevogel, P.-P. Pastoret et P. Leroy

RÉSUMÉ

Des essais de vaccination ont été menés à l'aide de vaccins atténué ou inactivé pour le contrôle de l'infection par le *Pigeon herpesvirus 1* (PHV₁).

La souche atténuée proposée demeure légèrement pathogène chez l'animal; elle se multiplie tout autant que la souche d'origine dont elle dérive, et, comme celle-ci, persiste chez le pigeon après la première infection.

Les deux types de vaccination ont donné des résultats identiques et sont efficaces. En effet, ils permettent de réduire l'excrétion virale et l'intensité des symptômes après une inoculation d'épreuve au moyen d'une souche pathogène. Cependant, aucun des deux types de vaccination n'a pu prévenir l'apparition de porteurs asymptomatiques puisque la plupart des pigeons ont réexcrété du virus après un traitement par la cyclophosphamide. La vaccination réduit néanmoins l'excrétion virale et dès lors diminue d'autant la dissémination de la maladie.

La vaccination à l'aide d'un vaccin inactivé administré après l'inoculation au moyen d'une souche virulente permet également de réduire l'importance de la réexcrétion virale.

INTRODUCTION

Le *Pigeon herpesvirus 1* (PHV₁) est l'agent pathogène le plus souvent associé aux maladies respiratoires du pigeon (12, 13, 17). Sa présence a été démontrée tant en France qu'en Belgique dans la plupart des colombiers (6, 10, 12, 14, 20) et est également signalée dans de nombreux autres pays (1, 3, 5, 9).

Les lésions classiques de l'infection herpétique du pigeon consistent dans l'apparition de conjonctivite et de foyers de nécrose dans la cavité buccale, sur le voile du palais, le pharynx et le larynx. Des lésions peuvent en outre être observées au niveau de la trachée, du foie, de la rate, des reins et du pancréas. En effet, l'infection primaire des voies respiratoires et digestives antérieures peut être suivie par une phase de virémie et la dissémination du virus dans divers organes internes (13, 16).

Après guérison clinique de l'infection primaire, le PHV₁ persiste chez l'hôte et les pigeons peuvent présenter des épisodes spontanés de réexcrétion virale sans symptômes associés (19). Ces épisodes de réexcrétion peuvent être expérimentalement provoqués par le traitement des pigeons à l'aide de cyclophosphamide (2, 16, 19).

Dans un colombier infecté, les pigeons adultes deviennent donc des porteurs asymptomatiques de virus et l'éliminent par intermittence. Le virus ne semble pas être transmis par l'œuf, mais les pigeonneaux sont très rapidement infectés par leurs parents, par voie buccale. Ils échappent à la maladie clinique grâce à l'immunité passive d'origine maternelle, transmise par le vitellus. La plupart des pigeonneaux deviennent donc eux-mêmes rapidement des porteurs latents (15).

Le PHV₁, bien que présentant des caractères biologiques et antigéniques qui le distinguent de l'*Herpesvirus* des psittacés (virus de la maladie de Pachéco) (22) est également pathogène pour la perruche chez qui il provoque une hépatite aiguë, mortelle (11).

Le PHV₁ est sensible *in vitro* à l'action du phosphonoformate (7, 8) mais l'administration intramusculaire de ce composé ne prévient ni l'apparition de l'hépatite mortelle chez la perruche, ni la maladie clinique chez le pigeon, ne réduit pas l'excrétion virale et n'empêche pas les pigeons de devenir porteurs asymptomatiques (18).

La vaccination semblait donc la meilleure façon d'aborder le contrôle de la maladie et de la dissémination du PHV₁ (21).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pigeons

Tous les pigeons utilisés étaient âgés de 5 semaines et issus de parents indemnes de l'infection par le PHV₁.

Vaccin atténué

Obtention de la souche atténuée

La souche PHV₁/B/Cu₁-74 (20) a été passée 100 fois en série sur culture de fibroblastes d'embryons de poule. Le degré d'atténuation a été contrôlé par inoculation de perruches (*Melospitta-cus undulatus*) où l'on a constaté une réduction significative du taux de mortalité par rapport à la souche d'origine (11, 21, 22).

Etude du comportement de la souche atténuée chez le pigeon

Deux groupes de 5 pigeons ont été inoculés par badigeonnage de la muqueuse pharyngée au moyen de 10³ ufp, respectivement de la souche atténuée (groupe 1) et de la souche d'origine (groupe 2).

La muqueuse pharyngée des pigeons des 2 groupes a été écouvillonnée pour mesurer la quantité de particules infectieuses émises dans chaque cas, journalièrement pendant la période d'excrétion initiale, puis tous les 7 jours pendant 8 semaines pour détecter des réexcrétions spontanées. Les pigeons du groupe 1 ont ensuite été traités à l'aide de cyclophosphamide dans le but de provoquer un épisode de réexcrétion expérimentale et des écouvillons ont été journalièrement prélevés.

Préparation du vaccin inactivé

Le virus sauvage (PHV₁/B/Cu₁-74) a été multiplié sur fibroblastes d'embryons de poule, concentré 5 fois sur polyéthylène glycol 6000 (4), inactivé par la bêta-propiolactone et la chaleur (56° 30 min), puis émulsionné dans un volume égal d'adjuvant complet de Freund.

Essais de vaccination

Protocole expérimental

Vingt pigeons ont été divisés en 4 groupes de 5 (Groupes 3, 4, 5 et 6).

Les pigeons du groupe 3 ont été vaccinés par badigeonnage pharyngé de 10³ ufp de la souche atténuée. Cinq semaines plus tard, les mêmes animaux ont été inoculés de la même façon au moyen

d'une souche pathogène de PHV₁ (PHV₁/Cz/236/69) (5) et, 3 mois après la vaccination, soumis à un traitement par la cyclophosphamide.

Les pigeons du groupe 4 ont été vaccinés par 3 injections intramusculaires de vaccin inactivé (0,5 ml) faites à une semaine d'intervalle. Ils ont subi cinq semaines après la première injection la même inoculation d'épreuve que ceux du groupe 3 et un traitement par la cyclophosphamide après 3 mois.

Les pigeons du groupe 5 ont d'abord été inoculés à l'aide de la souche pathogène PHV₁/Cz/236/69 comme ceux des groupes 3 et 4, puis vaccinés 3 semaines plus tard par trois injections successives de vaccin inactivé (0,5 ml) réalisées à une semaine d'intervalle. Trois semaines après la dernière injection de vaccin, ils ont été soumis à un traitement par la cyclophosphamide.

Les pigeons du groupe 6 ont servi de témoins pour les groupes 3, 4 et 5, par inoculation à l'aide de la souche PHV₁/Cz/236/69 et traitement à la cyclophosphamide.

Mesure de l'excrétion virale et titrage des anticorps

La muqueuse pharyngée de tous les pigeons a été écouvillonnée journalièrement pendant 14 jours après l'inoculation d'épreuve, puis tous les 7 jours jusqu'au moment du traitement par la cyclophosphamide, puis à nouveau journalièrement pendant 10 jours. La muqueuse pharyngée des pigeons du groupe 3 a, en outre, été écouvillonnée journalièrement après l'administration de la souche atténuée. Du sang a été prélevé au moment de la première manipulation puis tous les 7 jours pour suivre l'évolution du taux des anticorps neutralisants spécifiques.

Analyse des résultats

Afin de simplifier l'analyse statistique, les résultats ont été groupés en 4 périodes:

- Période a ou période d'immunisation: à partir de la vaccination jusqu'à l'inoculation d'épreuve.
- Période b ou période d'inoculation: jusqu'à 14 jours après l'inoculation d'épreuve.
- Période c ou période de réexcrétion virale spontanée: de la deuxième à la huitième semaine qui suit l'inoculation d'épreuve.
- Période d ou période de réexcrétion virale provoquée: jusque 10 jours après le début du traitement par la cyclophosphamide.

Pour chaque groupe, les moyennes des titres des particules infectieuses excrétées et des titres en anticorps ont été comparées pour les différentes périodes. Les groupes vaccinés ont été comparés au groupe témoin et entre eux par le test de Mann et Withney.

Estimation des symptômes

L'intensité des symptômes a été estimée de la manière suivante:

- 0: pas de lésion,
- +: congestion des muqueuses buccale et pharyngée,
- ++: tuméfaction de la fente palatine et de l'orifice du larynx; 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.

RÉSULTATS

Comportement de la souche atténuée chez le pigeon

Aucune différence significative n'a été observée entre les moyennes d'excrétion des particules infectieuses des groupes 1 et 2 pendant la période d'excrétion virale initiale et celle de réexcrétion spontanée.

Les pigeons inoculés avec la souche d'origine pathogène (groupe 2) ont présenté pendant la période d'excrétion initiale les lésions caractéristiques de la

maladie, alors que seuls trois pigeons du groupe vacciné à l'aide de la souche atténuée (groupe 1) ont présenté de légers symptômes (Tableau I).

Pendant la période de réexcrétion spontanée, aucun symptôme n'a été observé dans aucun des deux groupes.

Le traitement par la cyclophosphamide des pigeons vaccinés par la souche atténuée (groupe 1) a été suivi chez 4 d'entre eux par une période de réexcrétion virale. Le cinquième n'a pas cessé d'excréter du virus depuis le premier jour.

Essais de vaccination

Comparaison de l'excrétion et de la réexcrétion virale entre les groupes

1° Comparaison entre le groupe témoin (6) et le groupe vacciné à l'aide de la souche atténuée (groupe 3):

Les pigeons vaccinés ont excrété moins de particules virales durant les périodes d'inoculation d'épreuve (a), de réexcrétion spontanée (b) et expérimentale (d) ($p < 0,01$).

De plus, aucune réexcrétion virale spontanée n'a été observée chez les pigeons vaccinés et leur traitement par la cyclophosphamide n'a pas été suivi de réexcrétion virale chez deux d'entre eux.

2° Comparaison entre le groupe témoin (6) et le groupe vacciné à l'aide du vaccin inactivé, administré avant l'inoculation d'épreuve (groupe 4):

Pendant la période d'inoculation d'épreuve (b), les pigeons vaccinés ont excrété moins de particules virales que les témoins ($p < 0,01$), et aucune excrétion n'a pu être mise en évidence chez deux pigeons vaccinés.

Pendant la période de réexcrétion spontanée (c), des différences significatives ont été observées entre les deux groupes ($p < 0,01$). En effet, aucun pigeon vacciné n'a réexcrété de virus, tandis que tous les pigeons témoins l'ont réexcrété.

Après le traitement par la cyclophosphamide (période d), les pigeons vaccinés ont réexcrété significativement moins de particules virales que les témoins ($p < 0,05$).

3° Comparaison entre le groupe vacciné à l'aide de vaccin atténué (3) et celui vacciné à l'aide de vaccin inactivé administré avant l'inoculation d'épreuve (4):

Aucune différence significative n'a été observée au cours des trois périodes (a, b, c).

4° Comparaison entre le groupe témoin (6) et le groupe vacciné à l'aide de vaccin inactivé administré après l'inoculation d'épreuve (5):

Les seules différences significatives ont été observées pendant la période de réexcrétion expérimentale: les pigeons vaccinés ont réexcrété moins de virus que les témoins ($p < 0,01$).

Tableau I.
Intensité des symptômes dans les groupes 1 et 2

PERIODES	GROUPE 1					GROUPE 2				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	-	+	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Comparaison entre les titres en anticorps spécifiques

Les seules différences significatives ont été observées pendant la période d'immunisation (a) entre les groupes vaccinés à l'aide du vaccin atténué (3) et du vaccin inactivé administré avant l'inoculation d'épreuve (4) ($p < 0,01$).

Symptômes cliniques

Comme décrit plus haut, le vaccin atténué est encore légèrement pathogène.

DISCUSSION

La souche atténuée du PHV₁ demeure légèrement pathogène et se multiplie tout autant chez l'animal que la souche d'origine. Comme cette dernière, la souche atténuée persiste chez le pigeon après la première infection, comme le démontre sa réexcrétion après injection de cyclophosphamide.

Les deux types de vaccination, pratiqués au moyen d'un vaccin soit atténué, soit inactivé, sont efficaces. En effet, tous deux réduisent l'excrétion virale primaire après une inoculation d'épreuve et l'intensité des symptômes. Cependant, après la vaccination au moyen du vaccin inactivé pratiquée avant l'inoculation d'épreuve, la séroconversion a été plus élevée et aucune excrétion virale n'a pu être décelée chez deux pigeons après l'inoculation d'épreuve.

Ni le vaccin atténué, ni le vaccin inactivé n'ont pu prévenir l'apparition de porteurs asymptomatiques puisque la plupart des animaux ont réexcrété le virus après un traitement à l'aide de cyclophosphamide postérieur à l'inoculation d'épreuve. Comme la souche atténuée persiste tout autant que la souche sauvage chez l'animal, nous n'avons pas distingué les particules virulentes des atténuées lors des épisodes de réexcrétion chez les pigeons vaccinés avec cette dernière. La persistance de la souche atténuée entraîne donc une certaine confusion épizootiologique.

Les deux types de vaccination ont permis de prévenir la réexcrétion virale spontanée et permettent donc de diminuer la dissémination du virus.

La vaccination au moyen de vaccin inactivé pratiquée après l'inoculation d'épreuve permet également de réduire la réexcrétion virale expérimentalement provoquée.

Néanmoins, la vaccination n'est pas la solution définitive de l'infection herpétique du pigeon. En effet, les pigeonceaux sont généralement contaminés dans les premiers jours de la vie et la vaccination ne prévient pas l'apparition du portage asymptomatique. Une solution pourrait être trouvée dans l'hyperimmunisation des parents au moyen de vaccin avant la période d'accouplement. Dans ce cas, l'utilisation de vaccin inactivé semble préférable puisque le vaccin atténué garde un pouvoir pathogène résiduel et que cette souche persiste chez l'animal vacciné. Cependant, des injections intramusculaires répétées d'un vaccin contenant un adjuvant huileux sont à déconseiller chez le pigeon de sport.

RÉFÉRENCES

1. Boyle, D.B. and Binnington, J.A. (1973). Isolation of a herpesvirus from a pigeon. *Australian Veterinary Journal* **49**, 54.
2. Coignoul, F. and Vindevogel, H. (1980). Cellular changes in the bursa of Fabricius and thymus of cyclophosphamide-treated pigeons. *Journal of Comparative Pathology* **90**, 395-400.
3. Cornwell, H.J.C., Weir, A.R. and Follett, E.A.C. (1967). A herpesvirus infection of pigeons. *The Veterinary Record* **81**, 267.
4. Dagenais, L., Lansival, B., Pastoret, P.-P. et Kaeckenbeeck, A. (1980). Détection par contre-immuno-électro-osmophorèse (C.I.E.O.P.), des rotavirus dans les matières fécales de veau, après concentration au polyéthylène glycol 6000 (P.E.G. 6000). *Annales de Médecine Vétérinaire* **124**, 223-227.
5. Krupicka, L., Smid, B., Valicek, L. and Pleva, V. (1970). Isolation of a herpesvirus from a pigeon on the chorio-allantoic membrane of embryonated eggs. *Veterinary Medicine (Prague)* **15**, 609-612.
6. Landre, F. (1982). *Thèse de doctorat*, sous presse.
7. Schwerts, A., Pastoret, P.-P., Vindevogel, H., Leroy, P., Agullar-Setien, A. and Godart, M. (1980). Comparison of the effect of trisodium phosphonofosphate on the mean plaque size of pseudorabies virus, infectious bovine rhinotracheitis virus and pigeon herpesvirus. *Journal of Comparative Pathology* **90**, 625-633.
8. Schwerts, A., Vindevogel, H., Leroy, P. and Pastoret, P.-P. (1981). Susceptibility of different strains of pigeon herpesvirus to trisodium phosphonofosphate. *Avian Pathology* **10**, 23-29.
9. Vetesy, F. and Tanyi, J. (1975). Occurrence of a pigeon disease in Hungary caused by a herpesvirus. *Magyar Allatorvosok*, 193-197.
10. Vindevogel, H., Dagenais, L., Lansival, B. and Pastoret, P.-P. (1981). Incidence of rotavirus, adenovirus and herpesvirus infection in pigeons. *The Veterinary Record* **26**, 285-286.
11. Vindevogel, H. et Duchatel, J.-P. (1977). Réceptivité de la perruche au virus herpès du pigeon. *Annales de Médecine Vétérinaire* **121**, 193-195.
12. Vindevogel, H. et Duchatel, J.-P. (1978). Contribution à l'étude de l'étiologie du coryza infectieux du pigeon. *Annales de Médecine Vétérinaire* **122**, 507-513.
13. Vindevogel, H. et Duchatel, J.-P. (1979). Les principales maladies infectieuses du pigeon. *Annales de Médecine Vétérinaire* **123**, 17-27.
14. Vindevogel, H., Kaeckenbeeck, A. et Pastoret, P.-P. (1981). Fréquence de l'ornithose-psittacose et de l'infection herpétique chez le pigeon voyageur et les psittacidés en Belgique. *Revue Médicale de Liège*, sous presse.
15. Vindevogel, H. and Pastoret, P.-P. (1980). Pigeon herpes infection: natural transmission of the disease. *Journal of Comparative Pathology* **90**, 409-413.
16. Vindevogel, H. and Pastoret, P.-P. (1981). Pathogenesis of pigeon herpesvirus infection. *Journal of Comparative Pathology* **91**, 415-426.
17. Vindevogel, H. and Pastoret, P.-P. (1982). Taubenherpesvirusinfektion (Pigeon herpesvirus 1): Ein Überblick. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, sous presse.
18. Vindevogel, H., Pastoret, P.-P. and Agullar-Setien, A. (1982). Assays of phosphonofosphate-treatment of pigeon herpesvirus infection in pigeons and budgerigars, and Aujeszky's disease in rabbits. *Journal of Comparative Pathology*, sous presse.
19. Vindevogel, H., Pastoret, P.-P. and Burtonboy, G. (1980). Pigeon herpes infection: excretion and reexcretion of virus after experimental infection. *Journal of Comparative Pathology* **90**, 401-408.
20. Vindevogel, H., Pastoret, P.-P., Burtonboy, G., Gouffaux, M. et Duchatel, J.-P. (1975). Isolement d'un virus herpès dans un élevage de pigeons de chair. *Annales de Recherches Vétérinaires* **6**, 431-436.
21. Vindevogel, H., Pastoret, P.-P. and Leroy, P. (preprint). Vaccination trials against pigeon herpesvirus infection.

22. Vindevogel, H., Pastoret, P.-P., Leroy, P. et Coignoul, F. (1980). Comparaison de trois souches de virus herpétique isolées de psittacidés avec le virus herpès du pigeon. *Avian Pathology* 9, 385-394.