

ANTIGENIC RELATIONSHIPS OF BULGARIAN VARIANT STRAINS A/PMV-1 ISOLATED FROM PIGEONS WITH CLASSIC STRAINS OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS

Georgi Hadjiev

*Central Veterinary Medical Research Institute,
15, Pencho Slaveikov Blvd, Sofia 1606, Bulgaria*

АНТИГЕНСКИ ОДНОСИ НА БУГАРСКИТЕ ВАРИЈАНТНИ ВИДОВИ П/ПМВ-1 ИЗОЛИРАНИ ОД ГУЛАБИ СО КЛАСИЧНИТЕ ВИДОВИ НА ВИРУСОТ НА НЈУКАСЛ БОЛЕСТА

Георѓи Хаџиев

*Централен институт за ветеринарни испитувања,
Бул. Пенчо Славевков 15, Софија 1606, Бугарија*

SUMMARY

The degree of antigenic coverage (relationship) of 3 variant strains of Avian Paramyxovirus Type 1 (A/PMV-1) isolated from pigeons in Bulgaria, 7 standard strains of Newcastle Disease Virus (NDV) in poultry and Bangor strain - a standard for A/PMV-2 was investigated. The studies were carried out by Hemagglutination-Inhibition Test (HI) of strain-homologous, and strain-heterologous, cross-tested each against the other, hyperimmune chicken sera by the method of Archetti and Horsfall (1950). The antigenic relationship factor R between the three local pigeon strains of A/PMV-1 ranged from 2.3 to 2.5, i.e. showed antigenic coverage of 39.9 to 43.7%. The factor R between variant A/PMV-1 from pigeons, on one hand, and the classic NDV strains, on the other, varied in a wider range - from 4.0 to 16.0, i.e. the antigenic coverage was within the range of 25.0 to 6.25%, regardless to what pathotype belonged NDV standard strains (lentogenic, mesogenic, neurotropic velogenic or viscerotropic velogenic). An antigenic relationship of pigeon A/PMV-1 and NDV strains, on one hand, and A/PMV-2 Bangor strains, on another, was not found (R factors, respectively % = 0.0). Serologically negative chickens at 5-7 weeks of age, inoculated in various ways in our previous experiments, have not shown clinical symptoms and death. The same chickens, however, have undergone immunologic changes (positive serum conversion) and have responded indifferently to a challenge with certain (100%) lethal dose of standard velogenic NDV strains, not showing any clinical symptoms of disease or death.

КРАТКА СОДРЖИНА

Беа испитувани степенот на антигенска покриеност (однос) на три варијантни видови на птичји парамиксовирус Тип 1 (П/ПМВ) изолирани од гулаби во Бугарија, 7 стандардни видови на вирусот на Њукасл (ВЊБ) болеста кај живината и видот Бангор-стандард за П/ПМВ. Проучувањата беа извршени со Хемаглутинационо-Инхибиционен тест (ХИ) на хомологниот вид и на хетерологниот вид, вкрстено тестирани еден спрема друг, хиперимуните пилешки серуми со методот на Аркети и Хорсфал (1950). Факторот R на антигенскиот однос помеѓу трите локални гулабји видови на П/ПМВ-1 се движеше од 2,3 до 2,5, т.е. покажа антигенска покриеност од 39,9% до 43,7%. Факторот R помеѓу варијантните П/ПМВ-1 од гулаби, од една страна, и класичните видови на ВЊБ од друга, варираа во поголем обем - 4,0 до 16,0, т.е. антигенската покриеност се движеше од 25,0 до 6,25%, без разлика на кој патотип припаѓаа стандардните видови на ВЊБ (лентогени, мезогени, невротропно велогени или висцеротропно велогени). Антигенски однос на гулабјите видови на П/ПМВ-1 и видовите на ВЊБ од една страна и видовите Бангор на П/ПМВ-2 од друга не беше откриен (R факторите, последователно %=0,0) серолошко негативните пилиња на возраст од 5-7 недели, инокулирани на најразлични начини во нашите претходни експерименти, не покажаа клинички симптоми и смрт. Истите пилиња, сепак, претрпеа имунолош-

INTRODUCTION

Since 1982 in Europe an infectious disease in pigeons began spreading, predominantly in domesticated and semi-domesticated breeds of Columbidae families, which clinically highly resembled the neurotropic form of Newcastle Disease in chickens. Specialists' opinions on the agent of the disease, which showed a typical epizootic course and worldwide distribution [19], have gradually come together on avian paramyxoviruses (A/PMV), classified in 9 serologic groups or types (A/PMV-1 - A/PMV-9) [2], isolated more and more frequently in sick or dead pigeons, showing typical clinic pattern.

The identification of the individual types of paramyxoviruses is made serologically by Hemagglutination-Inhibition Test (HI) [3]. Most frequently, the first three serotypes are found in fowls, and the other ones - in wild birds. Pigeons are relatively resistant to natural infection with Newcastle Disease Virus (NDV), but are rather susceptible to artificial infection. Paralyzes, followed by death are the dominating clinic signs [1, 31].

The first report in Europe on an acute contagious disease in domestic pigeons (*Columbia livia*)¹ with clinic signs, resembling neurotropic velogenic form of Newcastle Disease in chickens, has appeared in Italy in the first half of 1982 [11]. Later, the disease has been found in Belgium, Germany, including Ex-GDR, France, England, Hungary, Rumania, Israel, Ex-Czechoslovakia, Austria, Sweden, USA, Japan, Yugoslavia, Spain, Holland, etc. (cited by Hadjiev [19]).

Kaleta et al. [20] have proved that the virus designated as BVC 78, isolated in Iraq, was a typical representative of A/PMV-1 and the first of the later known A/PMV-1 isolates, responsible for the pansootic in pigeons in 1982 in Europe and other regions in the world.

Alexander et al. [4] have demonstrated with 9 monoclonal antibodies against classic NDV strain (Ulster 2 C) that their binding to 53 virus isolates from pigeons, received from 12 countries was identical, supported also by Russel and Alexander [27], i.e. the isolates were antigenically indistinguishable in between themselves and that they belonged to A/PMV serotype 1, whose main representative was NDV. Pigeon isolates, however, have shown a certain distinction from the "classic" NDV strains in their binding to the same antibodies.

A generally accepted standpoint [16, 17, 18, 19, 31, 30] was that the "variant" strains of A/PMV-1 from pigeons did not confine in their main biologic characteristics within the framework of one single pathotype, as it

ки промени (позитивна серумска конверзија) и реагираа индиферентно на инфекцијата со сигурно (100%) смртоносна доза на стандардни велогени видови на ВЊБ, не покажувајќи било какви клинички симптоми на болест и смрт.

ВОБЕД

Од 1982 во Европа почна да се шири заразна болест кај гулабите, најмногу кај домашните и полудомашните раси на фамилиите Columbidae, која клинички е многу слична на неуротропната форма на Њукасл болеста кај пилињата. Мислењата на специјалистите во врска со предизвикувачот на болеста која покажуваше типичен епизоотичен тек и дистрибуција низ целиот свет (19) постепено почнаа да укажуваат на птичјите парамиксовируси (П/ПМВ), класифицирани во 9 серолошки групи или типови (П/ПМВ-1 - П/ПМВ-9) (2), изолирани се почесто кај болните или мртвите гулаби и кои покажуваа типичен клинички образец.

Идентификацијата на поединечните типови на парамиксовируси серолошки се извршува со Хемаглутинација-инхибиција тест (ХИ) (3). Најчесто, првите три типа се наоѓаат кај живината, а другите типови кај дивите птици. Гулабите се релативно отпорни на природно заразување со вирусот на Њукасл болеста (ВЊБ), но се доста подложни на вештачко заразување. Парализа, по која следи смрт се најчестите клинички знаци (1, 31).

Првиот извештај во Европа за акутна заразна болест кај домашните гулаби (*Columbia livia*)¹ со клинички знаци, кои се слични на неуротропна многу вирулентна форма на Њукасл болеста кај пилињата, се појави во Италија во првата половина на 1982 (11). Подоцна, болеста беше откриена и во Белгија, Германија вклучувајќи ја и поранешна ГДР, Франција, Англија, Унгарија, Романија, Израел, Чехословачка, Австрија, Шведска, Јапонија, Југославија, Шпанија, Холандија итн. (цитирано од Хаџиев (19)).

Калета и други (20) докажаа дека вирусот именуван како BVC 78, изолиран во Ирак, беше типичен претставник на П/ПМВ-1 и прв од подоцна откриените П/ПМВ изолати одговорен за панзоотиката кај гулабите во 1982 во Европа и другите региони во светот.

Александер и други (4) покажаа со 9 моноклонални антители против класичниот вид на ВЊБ

¹ Within the basic species of domestic pigeon - *Columbia livia* of class Columbiformes, domesticated long ago, about 800 varieties have been described, classified in 3 groups: racing (homing) pigeons, decorative (exhibition) pigeons and meat breeds.

¹ Во основните видови на домашни гулаби - *Columbia livia* од класата Columbiformes, одамна припитомени, околу 800 видови се опишани, класифицирани во 3 групи: натпреварувачки гулаби, декоративни (изложбени) гулаби и за производство на месо.

was with the "classic" NDV strains, i.e. NDV affiliation to either lentogenic, mesogenic, and velogenic -viscerotropic or neurotropic pathotype.

Newcastle Disease virus is a homologous serologic type, although in some experiments some quantitative variations in titres have been found by virus neutralization, HI, and other laboratory tests [13, 27, 28, 29].

The differences in titres, according to HI test results and some other peculiarities of A/PMV-1 strains from pigeons in Great Britain and in other countries in Europe, Asia and North America, have not been so evident as the differences, observed in cross tests of pigeon isolates on one hand, and reference NDV strains on the other [3]. Weisman et al. [32] have confirmed these results in their comparative antigenic studies, finding some serologic and enzyme differences between "pigeon variant" of A/PMV-1 and "classic" NDV. Monospecific antisera against isolates of A/PMV-1 from pigeons in Israel have inhibited a "classic" NDV strain with significantly lower titres, obtained by HI and Neuraminidase Inhibition tests, as compared with their homologous ones, i.e. the pigeons isolates.

In the present work, the results from serologic investigations on the degree of antigenic coverage (relationship) of variant A/PMV-1 isolated from pigeons in Bulgaria and classic NDV strains – references for the various pathogen groups are presented.

MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

Viruses. The local strains, designated Pigeon/Vd.Bg/64/1984, Pigeon/Pd.Bg/76/1984 and Pigeon/Sf.Bg/80/1984, respectively, were isolated in chicken embryos (CE) from sick or dead racing pigeons, which have shown neural signs, including torticollis, while still living. In parallel, as a comparison basis of the investigation results, the reference NDV strains Hitchner-B1 and La Sota - lentogenic; Roakin, Komarov and Herfordshire (H) - mesogenic, Texas-GB - neuro-tropic velogenic and Haskovo - viscerotropic velogenic, as well as Bangor strain - reference for A/PMV-2, were used [14, 15].

Inactivated antigens. Antigens for HI test and for obtaining of strain-specific hyperimmune sera were prepared of amnio-allantoic fluids of chicken embryos, infected by the seven reference strains of NDV of the various pathogen groups, the three local variant strains of A/PMV-1 from pigeons and A/PMV-2 Bangor strain. Virus infectiousness was inactivated by formalin treatment, using a final concentration of 1:1000 at 36°C for 36 hours [8]. The effect of antigen inactivation was controlled by CE passage. The antigens prepared, divided in small volumes, were stored in frozen state at minus 10°C until their use.

(Алстер 2 Ц) дека нивното сврзување со 53 вирусни изолати од гулаби добиени од 12 земји беше идентично, што беше подржано и од Расел и Александер (27), т.е. изолатите не се разликуваа меѓусебно антигенски и дека припаѓаа на П/ПМВ серотипот 1 чиј главен претставник беше ВЊБ. Изолатите од гулабите, сепак покажаа одредени разлики "од класичните" видови на ВЊБ во нивното сврзување со истите антители.

Општоприфатено гледиште (16, 17, 18, 19, 31, 30) беше дека варијантните видови на П/ПМВ-1 од гулабите не ги ограничуваа своите карактеристики во рамките на еден патотип, како што беше случајот со класичните видови на ВЊБ; т.е. поврзаноста на ВЊБ со лентоген, мезоген и велоген - висцеротропен или невротропен патотип.

Вирусот на Њукасл болеста е хомологен серолошки тип, иако беа откриени во некои експерименти квантитативни варијации во титрите со помош на неутрализација на вирусот, ХИ и други лабораториски тестови (13, 27, 28, 29).

Разликите во титрите, според резултатите од ХИ тестот и некои други особености на видовите на П/ПМВ-1 со потекло од гулаби во Велика Британија и други земји во Европа, Азија и Северна Америка, не беа толку очигледни како разликите регистрирани во накрните тестови на изолатите од гулабите од една страна и референтните видови на ВЊБ од друга (3). Вајсман и други (32) ги потврдија овие резултати во нивните споредбени антигенски проучувања со наоѓање на некои серолошки и ензимски разлики помеѓу "гулабјата варијанта" на П/ПМВ-1 и "класичниот" ВЊБ. Моноспецифичните антисеруми против изолати на П/ПМВ-1 од гулаби во Израел го инхибираа "класичниот" вид на ВЊБ со значително пониски титри, добиени со ХИ и Невраминидаза Инхибициони тестови, споредено со нивните хомоложни типови, т.е. изолатите од гулабите.

Во овој труд се претставени резултатите од серолошките испитувања на степенот на антигена покриеност (однос) на варијантните П/ПМВ-1 изолирани од гулаби од Бугарија и класичните видови на ВЊБ референтни за различните патогени групи.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

МАТЕРИЈАЛИ

Вируси. Локалните видови со ознаки Гулаб/Вд.Бг/64/1984, Гулаб/Вд.Бг/76/1984 и Гулаб/Сф.Бг/80/1984 беа изолирани во пилешки ембриони (ПЕ) од болни или мртви натпреварувачки гулаби кои покажале нервни знаци, како што се тор-

Strain-specific polyclonal hyperimmune sera were obtained from 11 groups of 4 cockerels each, at 3.5 months of age, reared in isolation since 1 day of age without use of any immune-preventives. They were treated according to the scheme: (I) immunization by an intramuscular injection of a mixture of equal parts of the relevant inactivated antigen and Adjuvant complete Freund (Bacto), prepared ex tempore, at a dose of 1.0 ml/cockerel; (II) re-immunization after 7-weeks interval, using the same method and dose of ex tempore prepared mixture of equal parts of inactivated antigen and an adjuvant, consisting of two components - 10 parts of Arlacel A plus 90 parts of Bajol. Two weeks later the cockerels were totally bled.

Normal serum, negative against NDV (respectively against A/PMV-1 strains from pigeons) and A/PMV-2 was obtained from 4-5-months old chicks of the special farm of Institute for Veterinary Medical Preparations Control, Sofia. The chicks were reared in isolation since 1 day of age without use of immune-preventives. Preliminary, the cockerels were examined serologically by HI for antibodies against the viruses mentioned.

Chicken erythrocytes. The blood for preparing erythrocyte suspension was taken from regular donor hens. As an anticoagulant was used 4 % solution of sodium citrate or Alsever solution [10]. The erythrocyte suspension was prepared by the conventional method [9].

METHODS

Hemagglutination-Inhibition Test - beta procedure was applied in macro- and micro variants with 8 hemagglutination units [6, 9]. Assessment of the degree of antigenic coverage (relationship) between the virus strains. The factor R of antigen coverage in cross tests by HI between pairs of virus strains was calculated by Archetti and Horsfall [7] formula:

$$R = \sqrt{r_1 \cdot r_2}, \text{ where, } r_1 = \frac{\text{Titre of serum 1 with antigen-strain 2}}{\text{Titre of serum 1 with antigen-strain 1}}$$

$$r_2 = \frac{\text{Titre of serum 2 with antigen-strain 1}}{\text{Titre of serum 2 with antigen-strain 2}};$$

$$\% \text{ antigen coverage} = 100 / R$$

The value of $R = 1$ expressed complete (100%) antigen identity.

The value of $R < 2$ (respectively, $\% = 50$) is considered as significant antigenic coverage, and the value of $R > 2$ (respectively, $\% < 50$) expressed proportionally lower or higher, in quantitative terms, antigen interrelationship between the virus pair under comparison.

тиколис, додека биле уште живи. Паралелно на ова, како основа за споредба на резултатите од испитувањето, беа употребени референтните видови на ВЊБ Хичнер-Б1 и Ла сота- лентогени; Роакин, Комаров и Херфордшир (Х) - мезогени, Тексас-ГБ - невротропни велогени и Хасково - висцеротропни велогени, како и видот Бангор - референца за П/ПМВ-2 (14, 15).

Инактивирани антигени. Антигени за ХИ тестот и за добивање на видоспецифични хиперимуни серуми беа подготвени од амниоалантоисните течности во пилешките ембриони, инфицирани со седум референтни видови на ВЊБ од различните патогени групи, трите локални варијантни видови на П/ПМВ-1 од гулаби и видот Бангор од П/ПМВ-2. Инфективноста на вирусот беше инактивирана со третман со формалин, користејќи крајна концентрација од 1:1000 на 36°C во период од 36 часа (8). Ефектот на антигенската инаktivација беше контролиран со пасажа низ ПЕ. Подготвените антигени, поделени во мали количества, беа складирани во замрзната состојба на -10°C сè до нивната употреба.

Видоспецифични поликлонални хиперимуни серуми беа добиени од 11 групи од по 4 млади петли на возраст од 3.5 недели, одгледувани во изолација од првиот ден без употреба на било какви имуно превентивни средства. Тие беа третирани според следната шема: (I) имунизација со интрамускуларно вбризгување на смеса составена од еднакви количества на релевантниот инактивиран антиген и Адјуванс комплетен Френд (Бакто), подготвена ex tempore, во доза од 1.0 ml/млад петел; (II) реимунизација по интервал од 7 недели, употребувајќи го истиот метод и доза на ex tempore смеса составена од исти количества на инактивиран антиген и адјуванс кој се состои од две компоненти - 10 делови Арлацел А плус 90 делови Бајол. Две недели подоцна младите петли беа целосно искрварени.

Нормален серум, негативен против ВЊБ (исто така против видовите на П/ПМВ-1 од гулаби) и П/ПМВ-2 беше добиен од 4-5 месечни пилиња од специјалната фарма на Институтот за ветеринарна подготвителна контрола од Софија. Пилињата беа одгледувани во изолација од првиот ден без употреба имунопревентивни средства. Прелиминарно, младите петли беа серолошки испитани со ХИ за антитела против споменатите вируси.

Пилешки еритроцити. Крвта наменета за подготовка на еритроцитна суспензија беше земена од кокошки редовни крводарители. 4% раствор на натриум цитрат или Алсевер раствор беше употребен како антикоагулант (10). Еритроцитната суспензија беше подготвена со конвенционалниот метод (9).

RESULTS AND DISCUSSION

The results from the investigations on the degree of antigenic coverage (relationship) between the examined Bulgarian strains of A/PMV-1 from pigeons, the reference NDV strains and A/PMV-2 Bangor strain by HI, using strain-homologous hyperimmune sera and, cross-tested by strain-heterologous hyperimmune sera applying each- against-the-other pattern, are given in Table 1.

It can be seen from the table that factor R, expressing the antigen coverage (relationship) between the three local A/PMV-1 strains from pigeons, ranged from 2.3 to 2.5 ($x = 2.4 \pm 0.06$), i.e. from 39.9 to 43.7% ($x = 41.73 \pm 1.1\%$).

Antigenic coverage factor R between the pigeon variant strains on one hand, and the classic NDV reference strains, on the other, varied in a wider range: from 4.0 (or 25% for the pair A/PMV-1/ Pd.Bg/78/1984 and mesogenic NDV strain H) to 16.0 (or 6.25% for the pair A/PMV-1/Sf.Bg/80/1984 and NDV strain Roakin). R between the pairs of NDV strains ranged from 1 (i.e. antigenic coverage of 100%) to 4.0 (or 25%).

As can be seen from the table, no definite interrelation can be outlined in the degree of antigenic coverage between the variant strains from pigeons and classic NDV strains, depending on the affiliation of the latter to lento-, meso-, or velogenic (viscero- and/or neurotropic) pathogen group, as well as between the individual representatives inside the group of classic NDV strains.

Antigenic relationship between the reference of A/PMV serotype 2, Bangor strain, on one hand and the examined strains of A/PMV-1 from pigeons and classic NDV reference strains, on the other, was not found: R, respectively % = 0.0. Bangor strain, tested by its homologous antiserum, has shown regularly and completely logically $R = 1$ (100% antigenic coverage).

The data, found by us, concerning the degree of antigenic coverage (relationship) between the Bulgarian variant strains of A/PMV-1 from pigeons, included in the experiment, and the classic NDV strains, through the method of Archetti and Horsfall [7], we assessed as very convincing in clarification of their identity. These data were, on the other hand, in support of the significant antigenic differences of quantitative nature, found by many other authors [4, 11, 12, 25] between the variant strains of A/PMV-1 from pigeons and classic NDV strains in cross serologic studies by HI or other tests.

The differences in the degree of immunologic coverage of the variant strains of A/PMV-1 from pigeons and the classic NDV strains, found by us, obviously were not related with the affiliation of the latter to one or another pathotype. These data were in conformity with the results, obtained in similar studies by other researchers [22, 23, and 26].

МЕТОДИ

Хемаглутационен-Инхибиционен тест - бета постапка беше применета во макро и микро варијанти со 8 хемаглутинациски единици (6,9). Проценка на степенот на антигенска покриеност (однос) помеѓу видовите вирус. Факторот R на антигенската покриеност во накрсните тестови со ХИ помеѓу паровите видови вирус беше пресметан со формулата на Аркети и Хорсфал (7):

$$R = \sqrt{r_1 \cdot r_2}, \text{ каде } r_1 = \frac{\text{Титар на серум 1 со антиген-вид 2}}{\text{Титар на серум 1 со антиген-вид 1}}$$

$$r_2 = \frac{\text{Титар на серум 2 со антиген-вид 1}}{\text{Титар на серум 2 со антиген-вид 2}};$$

$$\% \text{ антигенска покриеност} = 100 / R$$

Вредноста на $R = 1$ изрази целосен (100%) антигенски идентитет.

Вредноста на $R < 2$ (следствено, %=50) се смета за значителна антигенска покриеност, а вредноста на $R > 2$ (следствено, %=50) го изразува пропорционално повисокиот или понискиот, од квантитативен аспект, антигенски меѓуоднос помеѓу парот на вируси кои се споредуваа.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите од испитувањата на степенот на антигенска покриеност (однос) помеѓу испитаните бугарски видови на П/ПМВ-1 од гулаби, референтните видови на ВЊБ и П/ПМВ-2 видот Бангор со ХИ, користејќи видохомологни хиперимунни серуми, накрсно тестирани со видохетерологни хиперимунни серуми употребувајќи го образецот секој-против-секого, се прикажани во Табела 1.

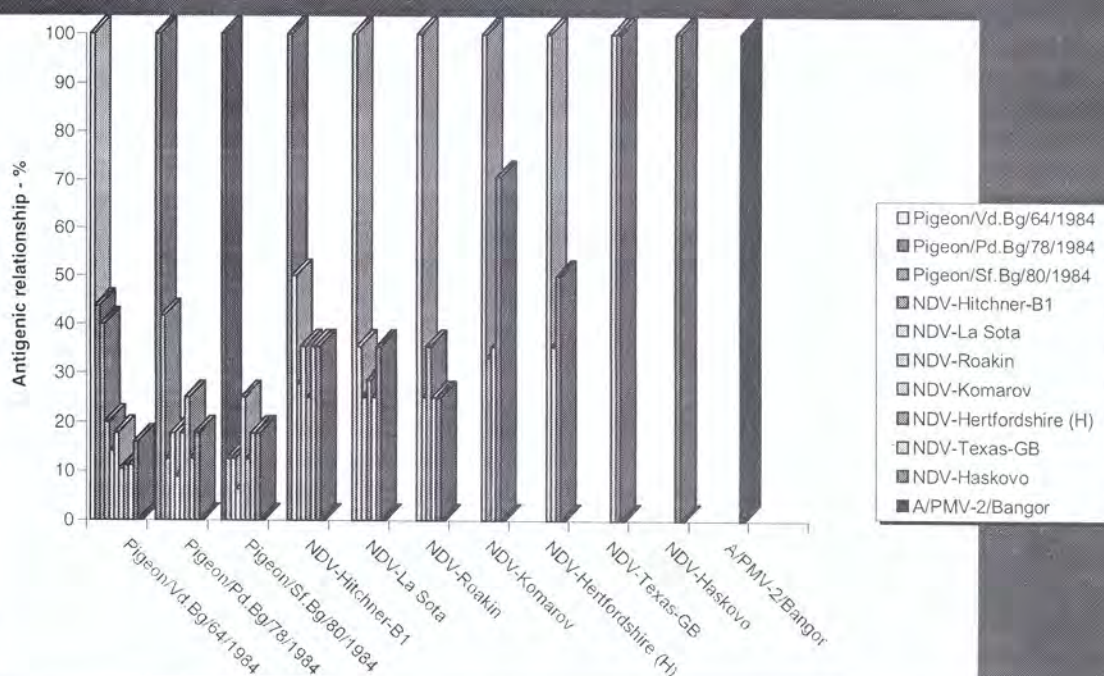
Од табелата може да се види дека факторот R кој ја изразува антигенската покриеност (однос) помеѓу трите локални видови П/ПМВ од гулаби, се движеше од 2.3 до 2.5 ($x = 2.4 \pm 0.06$), т.е. од 39.9 до 43.7% ($x = 41.73 \pm 1.1\%$). Факторот R на антигенската покриеност помеѓу гулабјите варијантни видови од една страна и класичните референтни видови на ВЊБ од друга, варираше во поголема мера: од 4.0 (или 25% за парот П/ПМВ-1/Пд.Бг/78/1984 и мезогениот вид Х на ВЊБ) до 16 (или 6.25% за парот П/ПМВ-1/Сф.Бг/80/1984 и видот Роакин на ВЊБ). R помеѓу паровите на видови на ВЊБ се движеше од 1 (т.е. антигенска покриеност од 100%) до 4.0 (или 25%).

Како што може да се види од табелата не може да одреди никаков дефинитивен меѓуоднос во степенот на антигенска покриеност помеѓу ва-

ријантните видови од гулаби и класичните видови на ВЊБ, во зависност на припадноста на последни-
ве на ленто-, мезо- или велогената (висцеро- и/или
невротропна) патогена група, како и помеѓу поеди-
начните претставници во групата на класичните
видови на ВЊБ.

Податоците кои ние ги добивме во врска со степенот на антигенска покриеност (однос) помеѓу бугарските варијантни видови на П/ПМВ-1 од гулаби кои беа вклучени во експериментот и класичните видови на ВЊБ со помош на методот на Аркети и Хорсфал(7), ние ги проценивме како многу убедливи за појаснување на нивниот идентитет. Овие податоци беа, од друга страна, во корист на значителните антигенски разлики од квантитативна природа кои беа добиени од многу други автори (4, 11,12, 25) помеѓу варијантните видови на П/ПМВ-1 од гулаби и класичните видови на ВЊБ

Table 1. Antigenic relationship (%) in crossed HI tests in each-against-the other pattern between Bulgarian Strains of A/PMV-1, classic NDV Strains and A/PMV-2/Bangor



| Strain designation | 1. Pigeon/Vd.Bg/64/84 | 2. Pigeon/Pd.Bg/78/84 | 3. Pigeon/Sf.Bg/80/84 | 4. NDV-Hitchner-B ₁ | 5. NDV-La Sota | 6. NDV-Roakin | 7. NDV-Komarov | 8. NDV-Hertfordshire (H) | 9. NDV-Texas-GB | 10. NDV-Haskovo | 11. A/PMV-2/Bangor |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % | R / % |
| 1. Pigeon/Vd.Bg/64/84 | 1 / 100 | | | | | | | | | | |
| 2. Pigeon/Pd.Bg/78/84 | 2.3 / 43.7 | 1 / 100 | | | | | | | | | |
| 3. Pigeon/Sf.Bg/80/84 | 2.5 / 39.9 | 2.4 / 41.6 | 1 / 100 | | | | | | | | |
| 4. NDV-Hitchner-B ₁ | 5 / 20 | 8 / 12.5 | 12.5 | 1 / 100 | | | | | | | |
| 5. NDV-La Sota | 7.1 / 14.1 | 5 / 17.7 | 8 / 12.5 | 2 / 50 | 1 / 100 | | | | | | |
| 6. NDV-Roakin | 5.7 / 17.7 | 11.3 / 8.8 | 16 / 6.25 | 3.6 / 27.8 | 2.8 / 35.4 | 1 / 100 | | | | | |
| 7. NDV-Komarov | 9.6 / 10.4 | 5.7 / 17.7 | 4 / 25 | 2.8 / 35.4 | 4 / 25 | 4 / 25 | 1 / 100 | | | | |
| 8. NDV-Hertfordshire (H) | 8.9 / 11.3 | 4 / 25 | 8 / 12.5 | 4 / 25 | 3.5 / 28.6 | 2.8 / 35.4 | 3 / 33.1 | 1 / 100 | | | |
| 9. NDV - Texas-GB | 8.8 / 11.3 | 8 / 12.5 | 5.7 / 17.7 | 2.8 / 35.4 | 4 / 25 | 4 / 25 | 2.8 / 35.4 | 2.8 / 35.4 | 1 / 100 | | |
| 10. NDV - Haskovo | 6.3 / 16 | 5.7 / 17.7 | 5.7 / 17.7 | 2.8 / 35.4 | 2.8 / 35.4 | 4 / 25 | 1.4 / 70.71 | 2 / 50 | 1 / 100 | 1 / 100 | |
| 11. A/PMV-2/Bangor | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1 / 100 |

во вкрстени серолошки проучувања со ХИ или други тестови.

Разликите во степенот на имунолошка покриеност на варијантните видови на П/ПМВ-1 од гулаби и класичните видови на ВЊБ откриени од наша страна, очигледно не беа поврзани со припадноста на последниве со еден или друг патотип. Овие податоци беа во согласност со резултатите добиени во слични проучувања на други истражувачи (22, 23 и 26).

Во некои други наши експерименти, серолошко негативните пилиња на возраст од 5-7 не-

дели, инфицирани од наша страна на различни начини (интрамускуларни, итравенозни, клоакални служни и коњуктивни размази, коњуктивни размази, директен контакт) со локални видови на П/ПМВ од гулаби, не покажаа клинички знаци на болест и смрт. Но, пилињата развија латентен инфективен процес, манифестиран преку нивната имунолошка конверзија - формирање на специфични антитела со многу високи титри (позитивна серумска конверзија) и индиферентна реакција на предизвикот со сигурно (100%) смртоносна доза на стандардни велогени видови на ВЊБ без да

манифестираат клинички знаци на болест и смрт. Практично, видовите на П/ПМВ-1, изолирани од гулаби во Бугарија, не претставуваа директна закана за пилињата и другите птици од фамилијата Galliformae. Истото беше докажано и со проучувањата, мотивирани од чисто прагматични

причини, на голем број на истражувачи (3, 11, 12 и 24), како и во практиката во нашата и другите земји во светот. Сепак, потенцијалниот ризик за реадапација на гулабјите видови на П/ПМВ-1 на пилињата и другите домашни птици не треба да се пренебрегне.

REFERENCES

1. Ahmed, A.A.S., I.M. Reda. Response of pigeons to eight strains of Newcastle disease virus. *Avian Diseases*, 11, 1967, 4, 734-740.
2. Alexander, D.J. Paramyxovirus infection. *Virus Infection of Birds*. Edited by J. B. McFerran and M.S. McNulty. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam-London-New York-Tokyo. 1993. Chapter 24. Pp. 363-374.
3. Alexander, D.J., P.H. Russell, M.S. Collins. Avian Paramyxovirus Type 1 infections of racing pigeons. 1. Characterization of isolated viruses. *Vet. Record*, 114, 1984a, 18, 444-446.
4. Alexander, D.J., P.H. Russell, G. Parsons, E.M.E. Abu, A. Ballouh, K. Āernik, B. Engström, M. Fevereiro, H.J.A. Fleury, M. Guittet, E.F. Kaleta, U. Kihm, J. Kösters, B. Lomniczi, J. Meister, G. Meulemans, K. Nerome, M. Petek, B. Polten, M. Prip, R. Richter, E. Saghy, Y. Samberg, L. Spanoghe, B. Tumova. Antigenic and biological characterization of avian Paramyxovirus type 1 Isolated from pigeons - an international collaborative study. *Avian Pathology*, 14, 1985, 365-376.
5. Anon. Hemagglutination-inhibition (HI). Microtest Methodology. In: *Methods for the Examination of Avian Pathogens*. Editorial Committee for the American Association of Avian Pathologists. Ed. S.B. Hitchner ET al. Dep. Vet. Microbiology. Texas A/M, University College Station. Texas 77843. Arnold Printing Corporation, Ithaca, New York 14850, 1975a, 331-336; 337-345.
6. Anon. Newcastle disease. In: *Methods for the Examination of Poultry Biologics*. Ended. (Rev.). Poultry Disease Sub-Committee on Animal Health. Agr. Bd. Div. Biol. Agr. Nat. Res. Council, Nat. Acad. Sci., Publ. 1038. Washington, D.C. 1963, 35-59.
7. Archetti, L., E.F. Horsfall. Persistent antigenic variation of Influenza A Viruses after incomplete neutralization in ovo with heterogeneous immune serum. *J. Exp. Med.*, 92, 1950, 441-462.
8. Beard, C.W. Avian Influenza. In: *Isolation and identification of avian Pathogens*. Editorial Committee: S.B. Hitchner ET al. 2nd Ed. Am. Ass. Avian Pathologists. Dep. Vet. Microbiology. Texas A/M. Univ. College Station. Texas 77843, 1980, 67-69.
9. Beard, C.W. Serological procedures. In: *Isolation and identification of avian Pathogens*. Editorial Committee: S.B. Hitchner et al. 2nd Ed. Am. Ass. Avian Pathologists. Dep. Vet. Microbiology. Texas A/M. Univ. College Station. Texas 77843, 1980a, 129-135.
10. Beard, C.W., J. Wilkes. A simple and rapid microtest procedure for determining Newcastle hemagglutination-inhibition (HI) antibody titers. *Proc. 77th Ann. Meet. U.S. Animal Health Ass.* 1973, 596-600.
11. Biancifiori, F., A. Fioroni. An occurrence of Newcastle disease in pigeons: virological and serological studies on the isolates. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 6, 1983, 3, 243-252.
12. Āernik, K., K. Tomova, B. Kaminsky, V. Rajtar. Serologicky dukaz vyskytu aviaznich paramyxoviru u holubu. *VeterinĀrni Medicina*, 30, 1985, 10, 603,-610.
13. Gomez-Lilo, M., R.A. Bankowski, D.J. Wiggins. Antigenic relationships among viscerotropic velogenic and domestic strains of Newcastle disease virus. *Am. J. Vet. Res.*, 35, 1974, 4, 471-475.
14. Hadjiev, G. Studies of some properties of Newcastle disease virus in poultry in Bulgaria. II. Main Death Time of Chicken Embryos. *Veterinary Sciences*, 7, 1970, 5, 99-104.
15. Hadjiev, G. Studies of some properties of Newcastle disease virus in poultry in Bulgaria. Ph. D. Thesis. Central Veterinary Medical Research Institute. Sofia, Bulgaria 1973
16. Hadjiev, G. Avian Paramyxovirus likes to Newcastle virus - etiology agent of new (neural) disease of Racing Pigeons. Bulletin for express information. Central Veterinary Medical Research Institute. Sofia, Bulgaria. 1984, 7, 3-7.
17. Hadjiev, G. Paramyxovirus types 1 Infection Of Racing Pigeons in Bulgaria. VIIIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association. Jerusalem - Israel, August 26-29, 1985. Program and Abstracts, p. 118.

18. Hadjiev, G. Outbreaks of Paramyxovirus-1 infection among pigeons. *Veterinarna Sbirka*, 84, 1986, 5, 20-24.
 19. Hadjiev, G. Investigation on some peculiarities of Newcastle disease of fowls and Paramyxovirus type 1 infection of Racing Pigeons in Bulgaria. D. Sc. Thesis. Central Veterinary Medical Research Institute. Sofia, Bulgaria, 1988.
 20. Kaleta, E.F., D.J. Alexander, P.H. Russell. The first isolation of the avian PMV-1 virus responsible for the current panzootic in pigeons? *Avian Pathology*, 14, 1985, 553-557.
 21. King, D.J. Avian Paramyxovirus Type 1 from Pigeons: Isolate Characterization and Pathogenicity after Chicken or Embryo Passage of Selected Isolates. *Avian Diseases*, 40, 1996, 707-714.
 22. Lipkind, M., D. Shoham, E. Shihmanter. Isolation of a Paramyxovirus from pigs in Israel and Antigenic Relationships with Avian Paramyxoviruses. *J. Gen. Virol.*, 67, 1986, 427-439.
 23. Lipkind, M., E. Shihmanter. Antigenic Relationships between Avian Paramyxoviruses. I. Quantitative Characteristics Based on Hemagglutination and Neuraminidase Tests. *Arch. Virology*, 89, 1986, 89-111.
 24. Meulemans, G., M. Gonze, M.S. Carlier, P. Petit, A. Burney, Le Long. Antigenic and Biological Characterization on Avian Paramyxovirus Type 1 Isolated from Pigeons. *Archives of Virology*, 87, 1984, 151-161.
 25. Richter, R. III. Tagung der Fachgruppe Geflügelkrankheiten. Thema: Vogelkrankheiten. Schwerpunkt Taube. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 1983, 86-95.
 26. Rische, N., M. Lipkind. Antigenic Relationships between Avian Paramyxoviruses. II. Combinatorial Mathematical Model of Antigenic Kinship. *Arch. Virology*, 92, 1987, 243-253.
 27. Russel, P.H., D.J. Alexander. Antigenic variation of Newcastle disease virus strains detected by monoclonal antibodies. *Arch. Virology*, 75, 1983, 243-253.
 28. Schloer, G. Antigenic relationships among NDV mutants obtained from laboratory strains and from recent California isolates. *Inf. Immunol*, 10, 1974, 4, 724-732.
 29. Schloer, G., J. Spalatin, R.P. Hanson. Newcastle disease virus antigens and strain variations. *Am. J. Vet. Res.*, 36,, 1975, 4, 505-508.
 30. Sing, G. Biological Properties of Avian Paramyxovirus Type 1 Isolated from Pigeons. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 14, 1993, 3/4, 34-35.
 31. Stewart, G.H. Naturally occurring clinical Newcastle disease in the racing pigeon (Columbia Livia). *Ver. Record*, 89, 1971, 225-226.
 32. Weisman, Y., A. Aronovici, M. Malinson, E. Shihmanter, M. Lipkind. PMV-1 and Newcastle disease virus in pigeons in Israel. *Vet. Record*. 118, 1986, 12, 342-343.
-