

SEROLOGICAL STUDY ON CHICKENS GAINED FROM BREEDERS VACCINATED WITH TWO DIFFERENT DOSES OF CIAV VACCINE

KIFAH NASHAR

Faculty of Vet. Med., El-Bath Unive., Syria.

ABSTRACT

Received at: 31/3/2013

Accepted: 14/5/2013

The objective of this work is to evaluate field situation depends on vaccinating bird from breeder flock, then mixing them with the rest of the flock to transfer vaccine virus to all birds in the flock. Two breeder flocks was vaccinated with attenuated live vaccine of CIV, all birds in the first flock was vaccinated, while only 20% of birds in the second flock was vaccinated. The samples was collected from the two breeder flocks and their progenies. Then ELISA test was applied to all samples and showed that CV% in full vaccinated breeders and their progenies was more than the others. Zero titers of antibodies was compared between the two breeder flocks and their progenies, also the percentage of titers above 5000 was compared between the two breeder flocks. Other subjects was studied in this work, and all results showed the necessity of vaccinating all birds in breeder flocks.

Key words: Serology, CIAV Vaccine, Elisa.

دراسة مصلية لصيصان دجاج لحم ناتجة من أمات محصنة بجرعتين مختلفتين من لقاح مرض فقر الدم المعدي

كفاح نشار

الهدف من هذه الدراسة تقييم واقع حقلي يعتمد على تحصين جزء من أفراد قطيع الأمات والسماح له بالاختلاط مع باقي أفراد القطيع لينتقل إليها فيروس اللقاح بعد طرحه من جسم الطير، وبالتالي تتشكل عندها أضداد نوعية لفقر الدم المعدي.

تمت التجربة في ظروف حقليّة، حيث حُصّن قطيع الأمات الأول بجرعة كاملة من اللقاح الحي المُضعّف، بينما تم تحصين ٢٠% من قطيع الأمات الثاني، ثم تم الحصول على قطيعي صيصان دجاج لحم، حُصل على صيصان القطيع الأول من قطيع الأمات الأول بينما حصل على صيصان القطيع الثاني من قطيع الأمات الآخر، ثم جمعت عينات دم من قطعان التجربة وقورنت في نقاط عدة منها معامل الاختلاف CV% باختبار الاليزا، وقد أشارت النتيجة إلى أن التجانس أعلى في الأمات المحصنة بشكل كامل وكذلك في الصيصان الناتجة عنها.

كما تمت دراسة نسبة العينات التي أعطت مستوى أضداد صفراً في اختبار الاليزا في جميع قطعان التجربة، وقورنت نسبة العينات بين قطيعي الأمات التي أعطت باختبار الاليزا قيمة أعلى من ٥٠٠٠ لما لها من أهمية في حماية الذرية. كما تمت دراسة نقاط أخرى، وقد أظهرت جميع نتائج هذه الدراسة أهمية تحصين القطيع كاملاً.

INTRODUCTION

المقدمة

عرف مرض فقر الدم المعدي كمرض جديد يصيب صغار الدجاج، ويسببه فيروس جديد (Yuasa et al., 1979) صنف كعضو وحيد في جنس سيركوفيرس من عائلة سيركوفيدا (Koch et al., 1995).

وهو فيروس غير مغلف، يبلغ قطره حوالي ٢٠ نانومتر، يحوي على الحمض النووي الريبي المنقوص الأكسجين (DNA) حلقي مفرد المسلسلة، يتراوح وزنه الجزيئي ما بين 1.8-3.8kb (Gelderblom et al., 1989). حيث عزل الفيروس للمرة الأولى عام ١٩٧٩ في اليابان (Yuasa et al., 1979)، وأشارت المعلومات المصليّة إلى وجود انتشار واسع لفيروس فقر الدم المعدي في معظم دول العالم (McNulty, 1991).

يصيب الفيروس الدجاج وهو الثوي الوحيد المعروف للفيروس، وتعتبر جميع الأعمار حساسة للحمج، إلا أن قابلية الإصابة في الصيصان الناتجة من أمات محصنة تتناقص بصورة طبيعية وذلك تدريجياً خلال ١-٣ أسابيع الأولى من الفقس (Goryo et al., 1985). إن العرض الرئيسي للمرض هو حدوث فقر دم يبلغ ذروته بعد (١٤-١٦) يوماً بعد الخمج، وانخفاض في قيمة مكداص الدم (الهيماتوكريت) إلى قيمة تتراوح ما بين (٦٠-٢٧%)، ويلاحظ على الطيور المصابة انخفاض في الزيادة الوزنية ونسبة نفوق لا تتجاوز ٣٠%، أما نسيجياً فيلاحظ ضمور لمفاوي متعمم، حيث يسبب المرض كبتاً مناغياً وإصابة متكررة ومعقدة بممبيبات ثاقوية فيروسية أو بكتيرية أو فطرية (Yuasa, 1983).

ينتقل مرض فقر الدم المعدي عند الدجاج عمودياً وأفقياً (Yuasa et al., 1983b)، حيث يتم الانتقال العمودي للفيروس عن طريق بيض التفريخ والذي يعتبر الطريق الأكثر شيوعاً في انتقال المرض (Chettle et al., 1989).

إن التحصين ضد المرض باستراتيجياته الحالية يعتمد على تأمين مناعة عالية للصيصان الصغيرة ضد فيروس فقر الدم المعدي وذلك بتحسين قطعان الأمات والنجاح في الحد من حدوث المرض في الصيصان النامية (Engström, 1999).

أما بالنسبة للمناعة العمرية فإنها تتطور خلال الأسبوع الأول من العمر، وتكتمل عند عمر ثلاثة أسابيع (Yuasa & Imai, 1986).

تؤمن الأضداد الأمية مناعة قوية للصيصان ضد خمج فيروس فقر الدم المعدي وتستمر هذه الحماية لمدة ثلاثة أسابيع (Otaki *et al.*, 1992)، وإن ارتفاع مستوى الأضداد عند الأمات يؤدي إلى رفع مستوى حماية الصيصان الناتجة من تلك الأمات (Pagè-Manté *et al.*, 1997).

إن الأضداد الأمية ضد خمج فقر الدم المعدي تقي الصيصان بشكل فعال من الإصابة بالمرض شريطة عدم وجود كبت مناعي من مسببات فيروسية أخرى مثل الخمج بمرض التهاب الجراب المعدي (Yuasa *et al.*, 1980a).

MATERIALS and METHODS

مواد وطرائق البحث

مواد البحث:

أ- الطيور:

- 1- طيور المجموعة الأولى: قطيع أمات حُصِنَ بنسبة ١٠٠% بماء الشرب بعمر ١٥ أسبوعاً.
- 2- طيور المجموعة الثانية: قطيع أمات حُصِنَ بنسبة ٢٠% بماء الشرب بعمر ١٥ أسبوعاً.
- 3- طيور المجموعة الثالثة: قطيع دجاج لحم حُصِلَ على صيصانه من المجموعة الأولى.
- 4- طيور المجموعة الرابعة: قطيع دجاج لحم حُصِلَ على صيصانه من المجموعة الثانية.

ب- الأدوات المخبرية: محاقن سعة ٤ مل- أنابيب زجاجية سعة ٢٠ مل تستخدم لتثبيت عينات الدم- قطن وكحول- أنابيب إندورف لحفظ عينات المصل في المجمدة- رؤوس ماصة دقيقة بلاستيكية- ماصات دقيقة مفردة ومتعددة الرؤوس- حاوية لنقل عينات الدم للمخبر- ماء مقطر- مؤقت زمني- مثقلة - جهاز قارئ اليزا- مجموعة تشخيصية للكشف عن الأضداد النوعية لفقر الدم المعدي من شركة (SYNBIOTICS).

تم استخدام لقاح حي مضعف من شركة لوهمان نموذج THYMOVAC حيث تحوي الجرعة الواحدة ($10 \log_{4.5} \text{TCID}_{50}$) من فيروس فقر الدم عترة-1 CUX.

طرائق العمل:

التحصين: تم تحصين أفراد المجموعة الأولى بنسبة ١٠٠% عن طريق ماء الشرب، في حين أن طيور المجموعة الثانية تم تحصين ٢٠% من أفرادها بماء الشرب، ثم سمح لهذه الطيور بالاختلاط مع باقي أفراد القطيع. بينما لم يحصن أفراد القطيع الثالث والرابع.

جمع عينات الدم:

تم جمع الدم من طيور المجموعة الأولى والثانية عشوائياً عن طريق وريد الجناح باستخدام محقن سعة ٤ مل، ولقد تم جمع الدم في كلا القطيعين باتباع نفس الترتيب حيث تم جمع الدم قبل التحصين مباشرة في عمر خمسة عشر أسبوعاً ثم بعد التحصين بأسبوع، ثلاثة أسابيع، ثم بعد أربعة أسابيع، وقد تم جمع عينات الدم من صيصان المجموعة الثالثة والرابعة عن طريق الوريد الوداجي، حيث تم جمع عينات الدم أربع مرات من كلا القطيعين حيث تم الجمع في عمر (١، ٧، ١٤ و ٢١) يوماً.

ونقلت عينات الدم في الحافظة المبردة إلى المختبر حيث ثقلت في أنابيب زجاجية سعة ٢٠ مل بمعدل ٢٥٠٠ د/ل لمدة عشرة دقائق، ووزع المصل في أنابيب إندورف ورقمت ووضع عليها تاريخ الجمع والمصدر وحفظت في التجميد العميق على الدرجة -٢٠ م، ليصار إجراء اختبار الاليزا عليها في وقت لاحق باستخدام مجموعة تشخيصية للكشف عن الأضداد النوعية لفقر الدم المعدي التجاري من شركة (Synbiotic Corporation, USA).

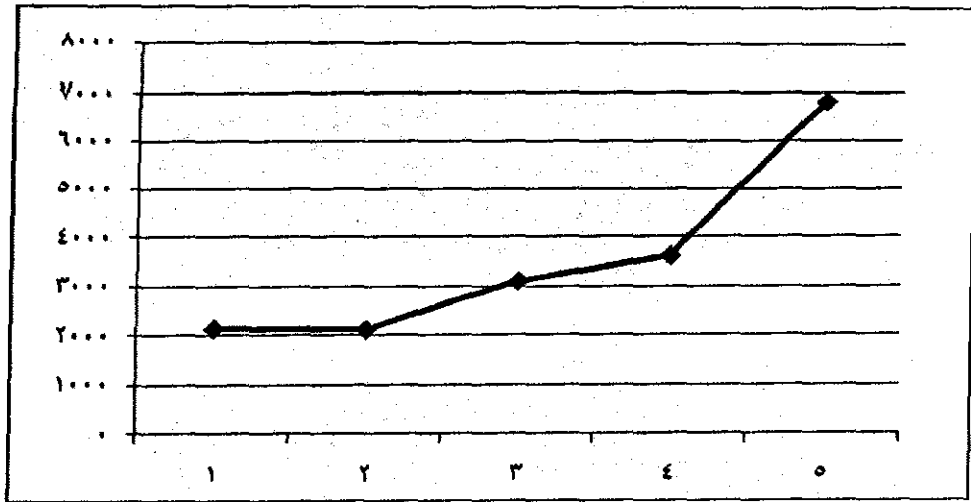
وحسب تعليمات الشركة المصنعة أنه عندما تكون قيمة $S/P \geq 0.349$ ، تعتبر هذه العينة ذات معيار من الأضداد صفراً (zero titer)، وعندما تكون قيمة $S/P \leq 0.350$ ، تعتبر عينة إيجابية أي يكون معيار الأضداد أكبر أو يساوي ١٤٧٢. كما أخذ بعين الاعتبار العينات ذات القيمة التي هي أعلى من ٥٠٠٠ حيث تمت مقارنة نسبة هذه العينات في كلا قطيعي الأمات، تمت مقارنة نسبة هذه العينات في كلا قطيعي الأمات، حيث تعتبر الأمات التي تتمتع بهذا المعيار في دمها قادرة على نقل كمية كافية من الأضداد النوعية تستطع معها تأمين مستوى الحماية إلى ذريتها بما يؤمن حماية نسلها من الإصابة بمرض فقر الدم المعدي خلال الأربعة أسابيع الأولى من عمرها (Canal *et al.*, 2004; Roussan, 2006).

RESULTS

النتائج

نتائج المجموعة الأولى:

حُصِنَت أفراد هذه المجموعة باللقاح الحي المضعف ضد مرض فقر الدم المعدي عند الدجاج وكانت النتائج كما هو موضح بالمنحنى البياني رقم ١:

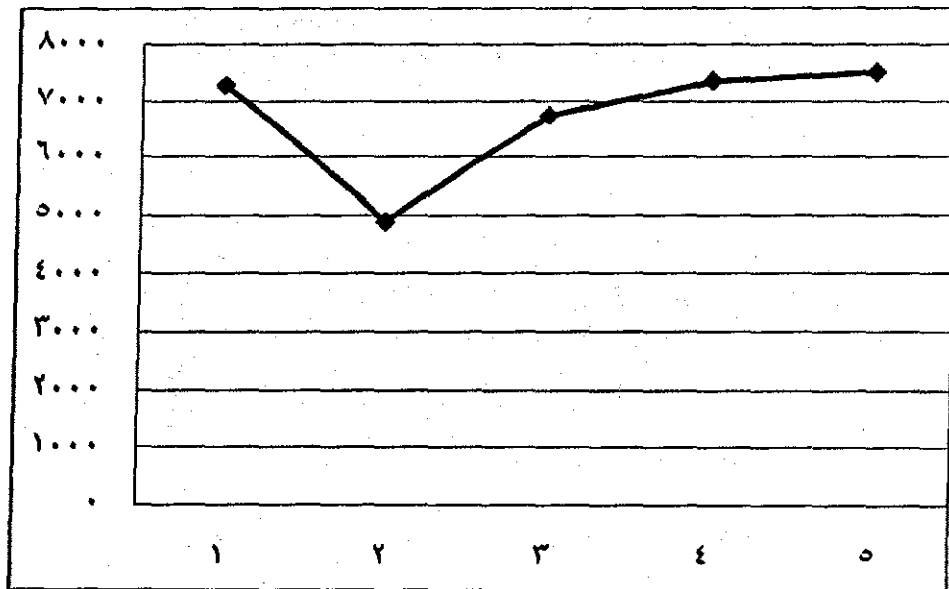


المنحني البياني رقم ١: تطور المتوسط الحسابي لمعيار الأضداد في المجموعة الأولى:

بلغ متوسط معامل الاختلاف (CV%) ٢٤,٥%، وكانت نسبة العينات التي أعطت قيمة صفراً في اختبار الاليزا zero titer ٠%، وكانت النسبة المنوية للعينات التي أعطت معيار أضداد أكبر من (٥٠٠٠) في الجمع الأخير للدم في عمر تسعة عشر أسبوعاً ٩٤%.

نتائج المجموعة الثانية:

حُصِنَت هذه المجموعة بنسبة ٢٠%، حيث تم جمع الدم قبل التحصين مباشرة ثم بعد التحصين وكانت النتائج كما هو موضح بالمنحني البياني رقم ٢:

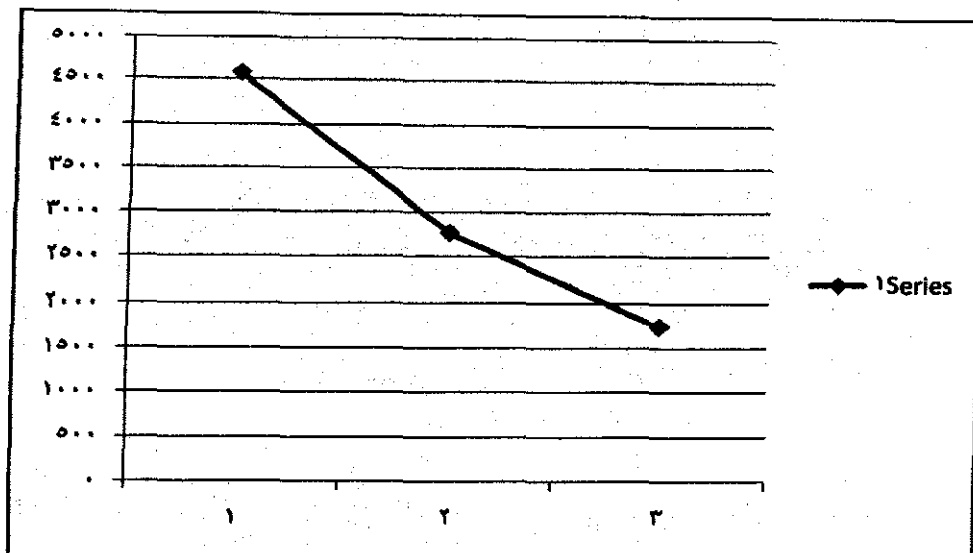


المنحني البياني رقم ٢: تطور المتوسط الحسابي لمعيار الأضداد في المجموعة الثانية:

وكان متوسط معامل الاختلاف CV% ٥٤,٤%، وكانت نسبة العينات التي أعطت قيمة صفراً في اختبار الاليزا titer ٣,٤٠%، وكانت نسبة العينات التي أعطت معيار أضداد أكبر من (٥٠٠٠) في الجمع الأخير للدم في عمر تسعة عشر أسبوعاً ٧٦%.

نتائج المجموعة الثالثة:

تم الحصول على أفراد هذه المجموعة من أفراد المجموعة الأولى وكانت نتائج جمع عينات الدم كما هو موضح في المخطط البياني رقم ٣:



مخطط بياني رقم ٣: انحدار الأضداد النوعية للمجموعة الثالثة

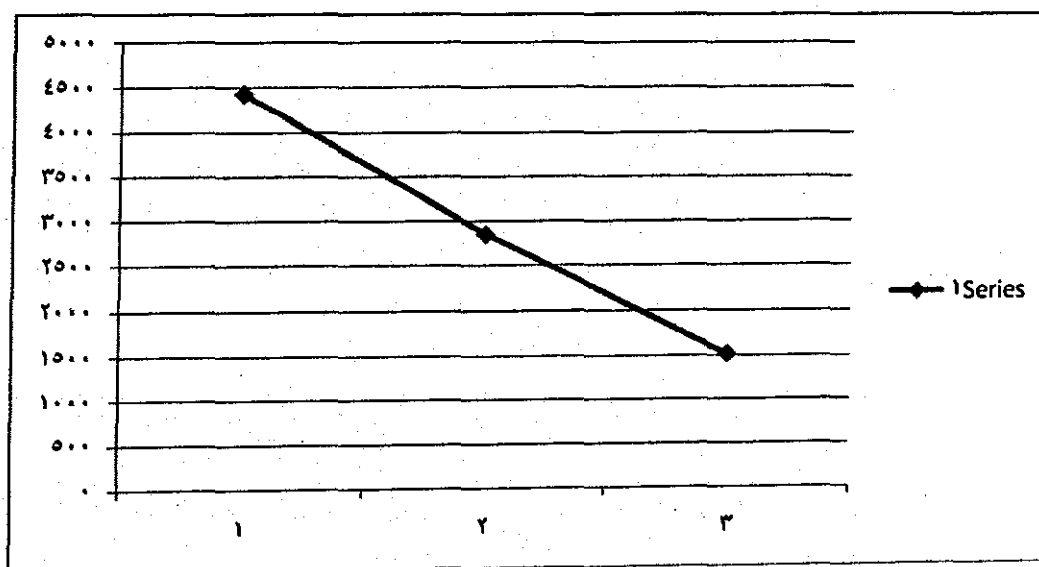
وكما تم الحصول على نتائج أخرى في هذه المجموعة تم ذكرها في الجدول رقم ٤:

جدول رقم ٤: معلومات مختلفة عن صيصان المجموعة الثالثة

المعطيات	النسبة المئوية
معامل الاختلاف في عمر يوم	٢٤,٦%
العينات التي أعطت قيمة صفراً في عمر يوم	٠%
معيار الأضداد المنقولة من الأمات للصيصان	٧٦%
انخفاض المتوسط الحسابي لمعيار الأضداد خلال ١٤ يوماً	٦٢%

نتائج المجموعة الرابعة:

تم الحصول على أفراد هذه المجموعة من أفراد المجموعة الثانية وكانت نتائج جمع عينات الدم كما هو موضح بالمنحنى البياني رقم ٥:



المنحنى البياني رقم ٥: المنحنى البياني لانحدار أضداد المجموعة الرابعة:

وكما تم الحصول على نتائج أخرى في هذه المجموعة تم ذكرها في الجدول رقم ٦:

المعطيات	النسبة المئوية
معامل الاختلاف في عمر يوم	٥٨,٥%
العينات التي أعطت قيمة صفراً في عمر يوم	١٣,٣%
معيار الأضداد المنتقلة من الأمات للصيصان	٥٩%
انحدار المتوسط الحسابي لمعيار الأضداد خلال ١٤ يوماً	٦٦%

DISCUSSION

مناقشة النتائج

لا بد لنا أن نشير في البداية إلى ملاحظة وهي أننا لم نجد أي قطيع أمات خالٍ من الأضداد النوعية لمرض فقر الدم المعدني لذلك تم إجراء البحث على قطعان إيجابية الأضداد.

نلاحظ من خلال مقارنة مستوى الأضداد قبل التحصين وبعده أن مستوى الأضداد تضاعف ثلاث مرات على الأقل في القطيع المحصن بالكامل مقارنة مع القطيع المحصن بنسبة ٢٠% الذي لم يظهر أي تطور يذكر في مستوى الأضداد بعد التحصين.

لوحظ أن متوسط معامل الاختلاف عند أمات المجموعة الأولى كان ٢٤,٥%، بينما كان في قطيع الأمات الثاني ٥٤,٤% وهذا يشكل فرقاً معنوياً بين النتيجتين ($P < 0.05$)، وهذا يعكس تجانساً أعلى لمستويات الأضداد في قطيع الأمات الأول مقابل القطيع الثاني.

وجد الباحث كاتال وزملاؤه في الدراسة التي درست قطعان أمات محصنة وأخرى تعرضت لعدوى طبيعية أن معامل الاختلاف CV% كان في الأمات التي تعرضت للعدوى بشكل طبيعي كان ضعف ما هو عليه في الأمات المحصنة وقد علل ذلك بالتفاوت في معيار الأضداد بين العينات في ذات القطيع (Canal et al., 2004)، وهكذا نجد أن نتيجة القطيع المحصن بنسبة ٢٠% في بحثنا قد اقتربت من هذه النتيجة مما يشير إلى أهمية حصول كامل أفراد القطيع على الجرعة اللازمة من اللقاح للوصول إلى أفضل مستويات للأضداد وأعلى تجانس لها.

كما تمت مقارنة نسبة العينات التي أعطت مستوى أضداد أكبر من ٥٠٠٠ في اختبار الاليزا في الجمع الأخير للعينات لما لها من أهمية، حيث تعتبر الأمات الحاملة لهذه القيمة قادرة على نقل حماية جيدة لذريتها ضد مرض فقر الدم المعدني (Canal et al., 2004; Roussan, 2006)، حيث بلغت نسبة ٧٦% من عينات القطيع المحصن بنسبة ٢٠%، مقابل ٩٤% للقطيع المحصن بالكامل. أبحاث أخرى أجريت في البرازيل أشارت إلى أن النسبة المئوية للعينات التي أعطت معيار أضداد أكبر من ٥٠٠٠ كانت ٩٩% في القطعان المحصنة، مقابل ٥٢% في القطعان غير المحصنة (Canal et al., 2004)، بينما كانت نتائج أبحاث أخرى معاكسة لنتيجة الباحث كاتال وزملاؤه، حيث أشار الباحث كوشكو وزملاؤه أن النسبة كانت ٩٣% في قطعان الأمات غير المحصنة مقابل ٧٥% في القطعان المحصنة (Khoshkhoo et al., 2011)، وقد يفسر هذا التفاوت في نتائج الأبحاث بتفاوت مستوى الأضداد قبل التحصين أو التعرض للعدوى الطبيعية.

كما درست نسبة العينات التي أعطت قيمة صفر في اختبار الاليزا حيث بلغت نسبتها في قطيع الأمات المحصن بالكامل ٣,٤% مقابل ٣,٤% في قطيع الأمات الآخر، لقد أشار الباحث كوشكو وزملاؤه ٢٠١١ أن هذه النسبة كانت ٥% في القطيع الذي تعرض للعدوى بشكل طبيعي بينما كانت ٥% في القطيع المحصن (Khoshkhoo et al., 2011)، إن نتيجة ٣,٤% في بحثنا تقرب من نتيجة القطيع غير المحصن في هذا البحث مما يشير إلى أن نسبة التحصين ٢٠% لم تكن كافية لإعطاء كافة أفراد القطيع مستوى أضداد جيداً وحامياً مقارنة مع القطعان المحصنة بالكامل.

بالنسبة لقطعان دجاج اللحم التي حصل على صيصانها من أمات المجموعتين السابقتين، فقد وجد أن النسبة المئوية لمعيار الأضداد المنقولة من الأمات لصيصانها كانت ٧٦% في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بنسبة ١٠٠%، مقابل ٥٩% في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بنسبة ٢٠% وهذا يعني أن النسبة كانت أعلى في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بالكامل، لقد وجد الباحث كوشكو وزملاؤه (Khoshkhoo et al., 2011) أن هذه النسبة كانت ٦١% في الصيصان الناتجة من الأمات غير المحصنة مقابل ٥١% في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة، وربما يعزى الاختلاف في نتيجة البحثين إلى الاختلاف في مستوى الأضداد في قطعان الأمات وتجانسها والظروف الحقلية.

لقد كانت نسبة العينات التي أعطت قيمة صفراً في اختبار الاليزا في عمر يوم واحد في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بالكامل ٥%، مقابل ١٣,٣% في الصيصان القادمة من الأمات المحصنة بنسبة ٢٠%، لقد أشار الباحث كوشكو وزملاؤه أن هذه النسبة في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة ٥%، بينما كانت في الصيصان الناتجة من أمات تعرضت للعدوى الطبيعية ١٢%، لقد تطابقت النسبة في القطعان المحصنة بالكامل بينما اقتربت نتيجة بحثنا ١٣,٣% من نتيجة القطعان التي تعرضت للعدوى الطبيعية، مما يشير مرة أخرى أن نتيجة التحصين بنسبة ٢٠% في الأمات وصيصانها كانت أقرب لنتيجة القطعان غير المحصنة.

كانت قيمة معامل الاختلاف CV% في اليوم الأول من عمر الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بالكامل ٢٤,٦%، مقابل ضعف هذه القيمة تقريباً في الصيصان الناتجة من القطيع الآخر ٥٨,٥%، وهذا يشكل فرقاً واضحاً بين القطيعين.

أشار الباحث كوشكو وزملاؤه (Khoshkhoo et al., 2011) أن هذه النسبة كانت في الصيصان الناتجة من أمات غير محصنة ضعف ما هي عليه في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة (٤٤,٧% مقابل ٢٢%).

كما تم مقارنة النسبة المنوية لانخفاض معيار الأضداد خلال أربعة عشر يوماً، حيث كان ٦٢% في الصيصان الناتجة من القطيع المحصن بالكامل، مقابل ٦٦% في الصيصان الناتجة من القطيع المحصن بنسبة ٢٠%، ونلاحظ أن النتيجة مقاربة، وقد يفسر ذلك بتعرض كلا القطيعين لنفس الظروف الحقلية أثناء فترة التجربة.

الاستنتاجات والتوصيات:

اعتماداً على ما سبق من نتائج دراستنا، فإننا نوصي باستخدام اللقاح الحي المضئف لفقر الدم المعدني في الأمات بجرعة كاملة ولجميع أفراد القطيع في عمر يتراوح بين (١٢-١٤) أسبوع من أجل تأمين حماية جيدة ومتجانسة للذرية الناتجة عنها، حيث أدى تحصين الأمات بجرعة كاملة ولجميع أفراد القطيع لرفع مستوى الأضداد فيها لثلاثة أضعاف ما كانت عليه قبل التحصين وأعطى تجانساً عالياً لمستويات الأضداد النوعية لفقر الدم المعدني فيها وأعطى نسبة مرتفعة من العينات ذات مستوى أعلى من ٥٠٠٠ بما لها من أهمية، وبالتالي كان للتحصين في الأمات بجرعة كاملة ولجميع أفراد القطيع انعكاسات ايجابية مهمة على الذرية من حيث مستوى وتجانس الأضداد الأمية المنتقلة لها، وكذلك انعدام والتقليل بشكل كبير من العينات التي كانت ذات قيمة صفرية باختبار الاليزا لما لها من خطورة على الصيصان خلال الأسابيع الأولى من عمرها، بينما كانت نتائج التحصين بنسبة ٢٠% في الأمات وذريتها أقرب إلى نتائج قطعان الأمات غير المحصنة وذريتها.

نوصي بإجراء أبحاث للتعرف على انتشار المرض بالقطر العربي السوري والأعمار التي تتعرض فيها القطعان للعدوى.

REFERENCES

المراجع

- Canal, CW.; Ferreira, DJ.; Macagnan, M.; Fallavena, LCB.; Moraes, HLS. and Wald, VB. (2004): Prevalence of antibodies against chicken anaemia virus (CAV) in broiler breeders in Southern Brazil. *Pesq. Vet. Brazil*. 24: 89-92.
- Chettle, NJ.; Eddy, R.K.; Wyeth, P.J. and Lister, S.A. (1989): An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. *Vet. Rec.* 124: 211-215.
- Engstrom, BE. (1999): Prevalence of antibody to chicken anaemia virus (CAV) in Swedish chicken breeding flocks correlated to outbreaks of blue wing disease (BWD) in their progeny. *Acta Vet Scand* 40: 97-107.
- Gelderblom, H.; Kling, S.; Lurz, R.; Tischer, I. and Bulow, V. (1989): Morphological characterization of chicken anaemia agent (CAA). *Arch Virol* 109: 115-120.
- Goryo, M.; Sugimura, H.; Matsumoto, S.; Umemura, T. and Itakura, C. (1985): Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian Pathol* 14: 483-496.
- Koch, G.; Van roozelaar, D.J.; Verschuere, C.A.J.; Van dereb, A.J. and Noteborn, MHM. (1995): Immunogenic and protective properties of chicken anaemia virus proteins expressed by baculovirus. *Vaccine* 13: 763-770.
- Khoshkhou, PH.; Akbariazad, G. and Tashakori, M. (2011): Comparison of CAV antibody titers in a vaccinated and naturally infected broiler breeder flocks. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 5(20), pp. 3162-3165, 30 September, 2011.
- Mcnulty, MS. (1991): Chicken anaemia agent: A review. *Avian Pathol.* 20: 187-203.
- Otaki, Y.; Saito, K.; Tajima, M. and Nomura, Y. (1992): Persistence of maternal antibody to chicken anaemia agent and its effect on the susceptibility of young chickens. *Avian Pathol.* 21: 147-151.
- Page-mante, A.; Saubi, N.; Artigas, C. and Espuna, E. (1997): Experimental evaluation of an inactivated vaccine against chicken anaemia virus. *Avian Pathol.* 26: 721-729.
- Roussan, DA. (2006): Serological survey on the prevalence of chicken infectious anemia virus in commercial broiler chicken flocks in Northern Jordan. *Int. J. Poult. Sci.*, 5: 544-546.
- Yuasa, N. (1983): Propagation and infectivity titration of the Gifu-1 strain of chicken anemia agent in a cell line (MDCCMSB1) derived from Marek's disease lymphoma. *NatlInstAnim Health Q (Jpn)* 23: 13-20.
- Yuasa, N. and II, K. (1986): Pathogenicity and Antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA). *Avian Pathol.* 15: 639-645.
- Yuasa, N.; Taniguchi, T. and Yoshida, I. (1979): Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis.* 23: 366-385.
- Yuasa, N.; Noguchi, T.; Furuta, K. and Yoshida, I. (1980a): Maternal antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Dis.* 24: 197-201.
- Yuasa, N.; Taniguchi, T.; Imada, T. and Hihara, H. (1983b): Distribution of chicken anemia agent (CAA) and detection of neutralizing antibody in chicks experimentally inoculated with CAA. *NatlInst Anim Health Q (Jpn)* 23: 78-81.