

## A FIELD STUDY TO TRACE THE MATERNAL IMMUNITY OF CHICKEN INFECTIOUS ANEMIA IN BROILER CHICKEN

KIFAH NASHAR\* and ANOUAR ALOMAR\*\*

\* Fact. of Vet. Med.-Albaath University.

\*\* Fact. of Vet. Med.-Albaath University.

Email: [nasharvet@gmail.com](mailto:nasharvet@gmail.com)

### ABSTRACT

Received at: 7/8/2014

Accepted: 16/11/2014

This study was applied on two broiler flocks. Chickens in the experiment were divided into two groups, the first group was generated from unvaccinated breeders, while the second one was generated from breeders which was vaccinated with attenuated live vaccine of CIA. Indirect ELISA test was applied in this study to observe the maternal immunity levels and its decrease in both groups. The results showed that the maternal immunity levels in the second group was higher than the levels in the first one. The CV% which expresses the homogeneity of flock immunity levels was compared. It was found that the homogeneity in the second group was higher than that of the first one. The decrease rate of maternal immunity levels of CIA was compared in both groups. The results showed that it was higher in the first group. The results of this experiment showed the necessity of vaccination in breeders against CIA to produce good protected chicken with protective immunity levels.

*Key words: Maternal immunity, Chicken infectious anemia, Broiler chicken.*

### دراسة حقلية لتتبع مستويات المناعة الأمية في صيصان دجاج اللحم لمرض فقر الدم المعدي في الدجاج

كفاح نشار ، أنور العمر

Email: [gfnasharvet@gmail.com](mailto:gfnasharvet@gmail.com)

أجريت هذه الدراسة على قطيعي دجاج لحم ، حيث قسمت أفراد التجربة إلى مجموعتين ، المجموعة الأولى صيصان دجاج لحم ناتجة من أمات غير محصنة ، أما أمات المجموعة الثانية صيصان دجاج لحم ناتجة من أمات محصنة باللقاح الحي المضعف لمرض فقر الدم المعدي.

تمت الدراسة المصلية باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر لتتبع مستويات المناعة الأمية وانحدارها في مجموعتي التجربة ، وقد أوضحت النتائج أن مستويات المناعة الأمية في صيصان المجموعة الثانية كانت أعلى مما هي عليه في صيصان المجموعة الأولى ، كما أجريت مقارنة معامل الاختلاف (CV) الذي يعبر عن تجانس مستوى مناعة القطيع فوجد أن تجانس مستوى المناعة في صيصان المجموعة الثانية كان أعلى مما هو عليه في صيصان المجموعة الأولى ، كما تمت مقارنة نسبة انحدار مستويات المناعة الأمية لمرض فقر الدم المعدي عند الدجاج في مجموعتي التجربة ، فوجد أن نسبة الانحدار كانت أعلى في المجموعة الأولى مقارنة مع المجموعة الثانية. قد أسفرت نتائج هذه الدراسة عن أهمية تحصين الأمات ضد مرض فقر الدم المعدي للحصول على صيصان تتميز بمستوى جيد من المناعة وواق ضد الإصابة بمرض فقر الدم المعدي.

### INTRODUCTION

#### المقدمة

أفادت التقارير بوجود فيروس فقر الدم المعدي في قطعان الدجاج منذ عام ١٩٧٠م (Jakowski *et al.*, 1970) ، وتم عزله لأول مرة في اليابان عام ١٩٧٩م ، حيث تم عزل العترة Gifa-1 من قبل العالم يواسا وزملاؤه (Yuasa *et al.*, 1979).

وفي عام ١٩٨٣م رصد يواسا وزملاؤه تكاثر الفيروس في خطوط خلوية محضرة من أرومات الخلايا للمفاوية الدجاجية مسبباً تغيرات مرضية خلوية CPE (Yuasa *et al.*, 1983a).

وقد أشارت تقارير مصلية عديدة إلى وجود المرض في معظم بلدان العالم التي تنتشر فيها تربية الدواجن، وقد عُزل الفيروس في كل من اليابان والصين وأستراليا ونيوزيلندا وجنوب إفريقيا (Roussan, 2006). وصُنِفَ ضمن عائلة فيروسات سيركو Circoviridae

والتي تضم ثلاثة أجناس هي جنس سيركوفيروس circovirus الذي يضم نوعين هما سيركوفيروس الخنزيري، وسيركوفيروس المسبب لمرض المنقار والريش البيغاني psittacine beak and feather disease (BFDV)، وجنس سيكلوفيروس Cyclovirus الذي يصيب الحشرات، وجنس جيروفيروس Gyrovirus والذي يسبب مرض فقر الدم المعدي عند الدجاج (Mankertz, 2008).

لوحظ على الطيور المصابة بالمرض الشحوب والإجهاد وانخفاض في الكسب الوزني، ولكن العَرَض الأهم هو فقرُ دم يبلغ ذروته بعد (١٤-١٦) يوماً من الخمج، وتتعافى الطيور المصابة بفقر الدم بشكل تام من الإجهاد وفقر الدم بعد (٢٠-٢٨) يوماً من الإصابة (Yuasa *et al.*, 1979)، ويمكن أن يحدث نفوق الطيور المصابة في الفترة ما بين (١٢-٢٨) يوماً من حدوث الخمج وهو لا يتجاوز ٣٠% (Goryo *et al.*, 1985)، كما يلاحظ من خلال تشريح الطيور المصابة بالمرض ضمور في غدة التيموس (Goryo *et al.*, 1985)، وضمور في نقي العظام، وتكون الإصابة أكثر وضوحاً في نقي عظم الفخذ، ويصبح نقي العظام المتأثر ذا قوام دهني ولون مصفر أو وردي، أما بالنسبة لجراب فابريشيوس فيبدو أقل تأثراً بالفيروس، كما ويلاحظ نزف على الغشاء المخاطي للمعدة الغدية، والذي قد يلاحظ أيضاً على الجلد وتحت الجلد (Taniguchi *et al.*, 1983)، أما الكبد فيظهر عليه علامات توذم وتبرقش (Goryo *et al.*, 1989).

أما بالتشريح النسيجي المرضي فيلاحظ ضمور لمفاوي متمم، حيث يسبب المرض كبتاً مناعياً (Yuasa, 1983).

ينتقل المرض عامودياً وأفقياً (Yuasa *et al.*, 1983b)، حيث يتم الانتقال العمودي للفيروس عن طريق بيض التفريخ الذي يعتبر الطريق الأكثر أهمية في انتقال العدوى (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 بهدف الحد من حدوث المرض في الصيصان النامية (Engström, 1999). أما المناعة العمرية فإنها تتطور خلال الأسبوع الأول من العمر وتكتمل بعمر ثلاثة أسابيع (Yuasa and Imai, 1986).

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

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

## MATERIALS and METHODS

### مواد وطرائق العمل

#### مواد البحث:

#### أ- الطيور:

- ١- طيور المجموعة الأولى: قطيع صيصان دجاج لحم أخذت من أمات غير محصنة ضد مرض فقر الدم المعدي.
- ٢- طيور المجموعة الثانية: قطيع صيصان دجاج لحم أخذت من أمات محصنة باللقاح الحي لمرض فقر الدم المعدي.

ب- الأدوات المخبرية: محاقن سعة ٤ مل- أنابيب زجاجية سعة ٢٠ مل تستخدم لتثقيل عينات الدم- قطن وكحول طبي- أنابيب ابندورف لحفظ عينات المصل في المجمدة- رؤوس ماصة دقيقة بلاستيكية- ماصات دقيقة مفردة ومتعددة الرؤوس- حافظة لنقل عينات الدم- ماء مقطر- مؤقت زمني- مثقلة مبردة - جهاز قارئ اليزا- مجموعة تشخيصية للكشف عن أضداد مرض فقر الدم المعدي من شركة (SYNBIOTICS) تتألف من :

- ١- خمسة أطباق ٩٦ حفرة ثبت عليها مستضد حامل لفيروس فقر الدم المعدي CAV antigen coated plate.
- ٢- محلول التمديد Dilution Buffer.
- ٣- محلول إيقاف التفاعل Stop Solution.
- ٤- محلول الغسيل Wash Solution.
- ٥- الشاهد الإيجابي CAV Positive Control Serum.
- ٦- الشاهد السلبي Normal Control Serum.
- ٧- محلول الركيزة اللونية ABTS-Hydrogen peroxide Substrate Solution.
- ٨- محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم Goat anti-Chicken IgG (H+L) Peroxidase Conjugate Solution.

## طرائق العمل:

تمت تربية قطيعي التجربة في ظروف مشابهة للظروف الحقلية لمحاكاة الواقع الحقلية مع ملاحظة الأخذ بجميع احتياطات الأمن الحيوي وظروف التربية الجيدة، جمعت عينات الدم من طيور المجموعتين عن طريق الوريد الوداجي باستخدام محاقن سعة ٣ مل حيث تم الجمع في عمر يوم واحد ثم سبعة أيام ثم في عمر أربعة عشر يوم.

نُقلت عينات الدم في حاوية مبردة إلى المختبر، حيث نُقلت في أنابيب زجاجية سعة ٢٠ مل بمعدل ٢٥٠٠ د/د لمدة عشرة دقائق، ووزع المصل في أنابيب ايندورف ورقمت ووضع عليها تاريخ الجمع والمصدر وحفظت في التجميد العميق على الدرجة -٢٠°م، لحين إجراء اختبار الاليزا عليها 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 ايجابية أي يكون معيار الأضداد أكبر أو يساوي ١٤٧٢.

## ملخص طريقة عمل اختبار الاليزا وقراءة النتائج:

أُخرجت الكواشف والمصل المراد اختباره وتركت في درجة حرارة الغرفة (٢٢-٢٧°م) وتم رج المصل جيداً قبل الاستعمال باستخدام جهاز الرج Vortex.

## ١- تمديد المصل:

تم التمديد الأولي للمصل في طبق ذي ٩٦ حفرة غير مغطاة بالمستخد، حيث يتم إضافة ٢٥٠ ميكرو لتر من محلول التمديد إلى جميع الحفر عدا (A1-A2-A3-H10-H11-H12)، ثم يتم إضافة ٥ ميكرو لتر من عينة المصل في الحفرة المخصصة لها وفق ورقة العمل التي رسمت لطبق الاليزا ثم تمزج جيداً بحيث تكون نسبة التمديد في هذه المرحلة ١:٥٠.

## ٢- تمديد الشاهد الإيجابي والسلبي:

جُهِز الشاهد الإيجابي والسلبي في أنابيب ايندورف حيث وُضع ٢٥٠ ميكرو لتر من محلول التمديد وأضيف لها ٥ ميكرو لتر من الشاهد الإيجابي وبنفس الطريقة جُهِز الشاهد السلبي حيث يصبح التمديد ١:٥٠.

## ٣- تجهيز محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم المقترن Conjugate:

يوضع في حوالة ١٠ مل من محلول التمديد ويضاف لها ١٠٠ ميكرو لتر من محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم ومزجت جيداً للحصول على تمديد ١:١٠٠ هذه الكمية تكفي لطبق اليزا ٩٦ حفرة.

## ٤- تجهيز محلول الغسيل:

يُضاف ١٥ مل من محلول الغسيل إلى ٢٨٥ مل من الماء المقطر، ثم يمزج جيداً لنحصل على تمديد ١:٢٠٠.

## ٥- محلول إيقاف التفاعل:

يُضاف إلى ١٠ مل من الماء المقطر ٢,٥ مل من محلول إيقاف التفاعل ثم يمزج جيداً لنحصل على تمديد ١:٥٠ هذه الكمية كافية لطبق اليزا ٩٦ حفرة.

## طريقة العمل:

١- يُوضع ٥٠ ميكرو لتر من محلول التمديد في جميع حفر طبق الاليزا المغطى بمستخد فققر الدم المعدي.

٢- يُضاف ٥٠ ميكرو لتر من عينات المصل المختبر والتي تم تمديدها سابقاً، حيث يتم وضع كل عينة في الحفرة المحددة لها حسب ورقة العمل، ويصبح التمديد النهائي للمصل المختبر ١:١٠٠٠.

٣- يُضاف ٥٠ ميكرو لتر من الشاهد الإيجابي في الحفر المخصصة له وهي (A1-A3-H11)، و ٥٠ ميكرو لتر من الشاهد السلبي في الحفر المخصصة له وهي (A2-H10-H12).

٤- تُحضن لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة (٢٢-٢٧°م).

٥- مرحلة الغسيل: يتم التخلص من محتويات الحفر بشكل تام ومن ثم تغسل بمحلول الغسيل بإضافة ٣٠٠ ميكرو لتر لكل حفرة ثم تترك لمدة ٣ دقائق في درجة حرارة الغرفة، ثم يتم التخلص من محلول الغسيل بشكل جيد وتكرر العملية ثلاث مرات.

٦- يُضاف ١٠٠ ميكرو لتر من محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم لجميع الحفر ثم نحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة.

٧- تُكرر الخطوة رقم ٥.

٨- تُضاف الركيزة حيث يضاف ١٠٠ ميكرو لتر من محلول الركيزة لكل الحفر، ثم تُحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٥ دقيقة في مكان مظلم مغطاة بورق القصدير.

٩- يُضاف ١٠٠ ميكرو لتر من محلول إيقاف التفاعل مع الانتباه لعدم تشكيل فقاعات هوائية.

١٠- ضبط جهاز قارئ الاليزا.

- ١١- قراءة طبق الإليزا على موجة طولها ٤٠٥ nm نانومتر باستخدام جهاز قارئ الإليزا من طراز بيوتك (ELX800) BioTek.
- ١٢- وبعد الحصول على القراءة الضوئية (قياس الكثافة البصرية) تحول بواسطة برنامج PROFILE 2.01 for widows المرفق مع مجموعة التشخيص إلى قيم تُعبر عن مستوى الأضداد في مصلى الدم وتصنيفها في مجموعات وتوضيحها في مخطط بياني، وأن حساب عيار الأضداد يخضع للعلاقة الرياضية التالية:

$$S/P = (\text{Sample Abs} - \text{Average normal control Abs}) /$$

$$(\text{corrected Positive control Abs})$$

$$\text{Log10 Titre} = (1.009 \times \text{Log10 S/P}) + 3.628$$

$$\text{Titre} = \text{Antilog of Log10 Titre}$$

$$\frac{S}{P} = \frac{(\text{Sample Abs} - \text{Average normal control Abs})}{\text{corrected Positive control Abs}}$$

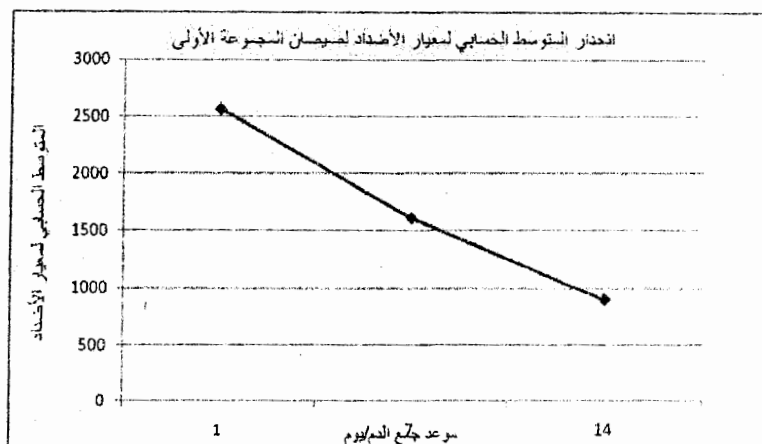
يؤخذ بعين الاعتبار انه في الشروط الطبيعية للاختبار يجب أن تكون قيمة الكثافة البصرية للشاهد السلبي تتراوح بين ٠,٠٧٥ إلى ٠,١٥٠، أما في الشاهد الإيجابي فيجب أن تتراوح بين ٠,٤٠٠ إلى ١,٠٠٠.

ويعتبر اختبار الإليزا لمعايرة الأضداد النوعية لفقر الدم المعدي عند الدجاج صحيحاً ومعتمداً عندما تكون قيمة الكثافة البصرية للشاهد السلبي أقل من ٠,٢٠٠، وعامل التصحيح يتراوح بين ٠,٢٥٠ إلى ٠,٩٠٠.

## RESULTS

### النتائج

١- نتائج قياس الأضداد في المجموعة الأولى (صيصان ناتجة من أمات غير محصنة):  
يبين المخطط البياني رقم (١) انحدار مستوى الأضداد النوعية عند صيصان المجموعة الأولى- الناتجة من الأمات غير المحصنة- خلال أربعة عشر يوم:



المخطط البياني رقم (١)

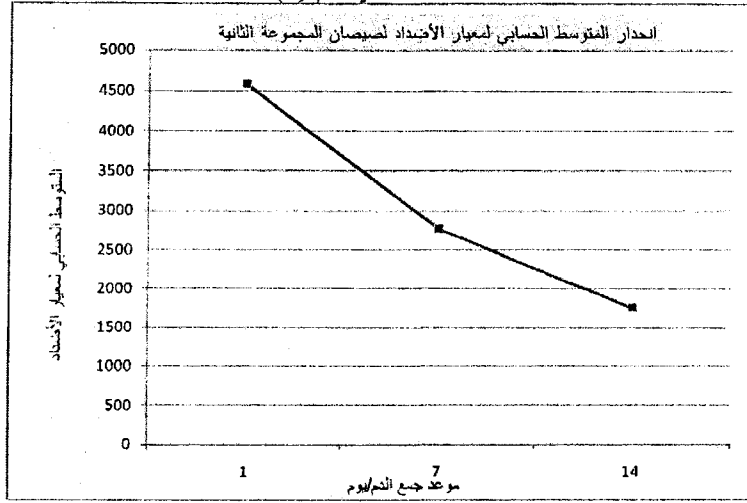
بلغ متوسط معيار الأضداد الأمية في عمر يوم واحد ٢٥٦٤ وانحدر في عمر سبعة أيام إلى ١٦١٢ أي بنسبة انحدار للأضداد بلغت ٣٨%، أما فيعمر أربعة عشر يوم فقد بلغ معيار الأضداد ٩٠١ وبلغت نسبة الانحدار في معيار الأضداد عن الجمع السابق ٤٥%، وكانت نسبة انحدار الأضداد خلال أربعة عشر يوم ٦٥%.

يظهر الجدول رقم ١: قيمة معامل الاختلاف والقيمة صفر ومقدار الانحدار الحاصل خلال ١٤ يوماً في صيصان المجموعة الأولى.

المعطيات	النسبة المئوية
معامل الاختلاف في عمر يوم CV%	٥٧,٥%
النسبة المئوية للعينات التي أعطت قيمة صفراً في عمر يوم واحد.	١٤%
النسبة المئوية لانحدار معيار الأضداد خلال ٤ يوماً.	٦٥%

٢- نتائج قياس الأضداد في المجموعة الثانية (صيصان ناتجة من أمات محصنة):  
يبين المخطط البياني رقم (٢) انحدار مستوى الأضداد النوعية لفيروس فقر الدم المعدي عند صيصان المجموعة الثانية- الناتجة من الأمات المحصنة - خلال أربعة عشر يوماً.

المخطط البياني رقم (٢)



بلغ متوسط معيار الأضداد الأمية في عمر يوم واحد ٤٥٨٢ وانحدر في عمر سبعة أيام إلى ٢٧٧٣ بنسبة انحدار للأضداد بلغت ٣٩,٥%، أما في عمر أربعة عشر يوم فقد بلغ معيار الأضداد ١٧٥٢ وبلغت نسبة الانحدار في معيار الأضداد عن الجمع السابق ٣٧%، وكانت نسبة انحدار الأضداد خلال أربعة عشر يوم ٦٢%.

الجدول رقم ٢: يظهر قيمة معامل الاختلاف والقيمة صفر ومقدار الانحدار الحاصل خلال ١٤ يوماً في صيصان المجموعة الرابعة.

المعطيات	النسبة المئوية
معامل الاختلاف في عمر يوم CV%	٢٤,٦%
النسبة المئوية للعينات التي أعطت قيمة صفراً في عمر يوم واحد.	٠%
النسبة المئوية لانحدار معيار الأضداد خلال ١٤ يوماً.	٦٢%

الجدول رقم (١)

## DISCUSSION

### المناقشة

لوحظ أن قيمة مستوى الأضداد النوعية لمرض فقر الدم المعدي عند الدجاج في عمر يوم واحد في صيصان المجموعة الأولى بلغ ٢٥٦٤ بينما بلغت هذه القيمة ٤٥٦٤ في صيصان المجموعة الثانية، ومن المعروف أن الصيصان التي تملك مستوى أعلى للأضداد تكون محمية بشكل أفضل ضد المرض.

هذا وقد بلغت قيمة معامل الاختلاف CV% في اليوم الأول من عمر صيصان المجموعة الثانية (الناتجة من الأمات المحصنة) ٢٤,٦%، مقابل ضعف هذه القيمة تقريباً في صيصان المجموعة الأولى (الناتجة من قطيع أمات غير محصن)، حيث بلغت النسبة ٥٧,٥%، تشير هذه النتيجة إلى الفارق في تجانس المناعة الأمية بين صيصان المجموعة الأولى وصيصان المجموعة الثانية، إن هذه النتيجة تعكس أهمية تحصين كامل قطيع الأمات من أجل أن تنقل هذه الأمات لصيصانها مستويات مناعية عالية التجانس عبر كيس المح، حيث كلما نقصت قيمة معامل الاختلاف كلما كان تجانس المناعة أفضل.

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 حيث كانت ٤٤,٧% و ٢٢% على الترتيب.

بلغت نسبة العينات التي أعطت قيمة صفر zero titers في اختبار الإليزا في عمر يوم واحد في صيصان المجموعة الثانية (صيصان ناتجة من أمات محصنة) ٠%، مقابل ١٤% في صيصان المجموعة الأولى (صيصان ناتجة من أمات غير محصنة)، نلاحظ أن النسبة كانت كبيرة في صيصان المجموعة الأولى مقابل غياب هذه القيمة في صيصان المجموعة الثانية، إن القيمة صفر zero titers في الصيصان تشكل حالة حرجة لهذه الصيصان حيث تكون هذه الصيصان عرضة للإصابة بالمرض خاصة في الأسابيع الأولى من عمرها (Yuasa, 1994).

أشار الباحث كوشكو وزملاؤه (Khoshkhoo et al., 2011) أن هذه النسبة في الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة بلغت ٠%، بينما بلغت في الصيصان الناتجة من أمات تعرضت للعدوى الطبيعية ١٢%.

أما نسبة انخفاض مستوى الأضداد النوعية لفقير الدم المعدني في صيصان المجموعة الثانية (صيصان ناتجة من أمات محصنة) خلال أربعة عشر يوماً بلغت ٦٢%، مقابل ٦٥% في صيصان المجموعة الأولى (صيصان قادمة من أمات غير محصنة).

## CONCLUSIONS and RECOMMENDATION

### الاستنتاجات والتوصيات

يلاحظ من هذه الدراسة أن الصيصان الناتجة من الأمات المحصنة كانت أفضل من الصيصان الناتجة من الأمات غير المحصنة في جميع النقاط التي تم دراستها، حيث لوحظ إن تجانس المناعة فيها كان أفضل بما له من دلالة مهمة على وجود مناعة أفضل في مواجهة التحدي الحثلي للإصابة بالمرض، كما لوحظ عدم وجود القيمة صفر باختبار الإليزا بينما كانت هذه القيمة كبيرة ١٤% في الصيصان القادمة من الأمات غير المحصنة حيث تكون الطيور الخالية من أي مستوى مناعي ضد المرض معرضة للإصابة بالمرض بسهولة.

يستنتج من هذه الدراسة ضرورة الحصول على صيصان قادمة من أمات محصنة ضد مرض فقر الدم المعدني لضمان عدم إصابتها بالمرض والوصول إلى أفضل النتائج المرجوة في تربية دجاج اللحم.

نوصي بتلقيح الأمات لضمان حصول ذريتها على مستويات عالية تؤمن الوقاية والحماية ضد مرض فقر الدم المعدني، كما أننا نوصي بإجراء أبحاث متممة للتعرف على انتشار المرض في القطر العربي السوري والأعمار التي تكون فيها القطعان حساسة للعدوى.

## REFERENCES

### المراجع

- Chettle, N.J.; R.K.; Eddy, P.J. Wyeth, and S.A. Lister. (1989): An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. Vet Rec 124: 211-215.
- Engström, B.E. (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.
- Goryo, M.; Sugimura, H.; Matsumoto, S.; Umemura, T. and Itakura, C. (1985): Isolation of an agent inducing chicken anaemia. Avian Pathol 14: 483-496.
- Goryo, M.; Suwa, T.; Umemura, T.; Itakura, C. and Yamashiro, S. (1989): Histopathology of chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803 strain). Avian Pathol 18: 73-89.
- Jakowski, R.M.; Fredrickson, T.N.; Chomiak, T.W. and Luginbuhl, R.E. (1970): Hemopoietic destruction in Marek's disease. Avian Dis 14: 374-38.
- Khoshkhoo, P.H. Akbariazad, G. and Tashakori, M. (2011): Comparison of CAV antibody titers in a vaccinated and naturally infected broiler breeder flocks. African Journal of Micro Research Vol. 5(20), pp. 3162-3165.
- Mankertz, P. (2008): Molecular Biology of Porcine Circoviruses. Animal Viruses: Molecular Biology. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-22-6. <http://www.horizonpress.com/avir>
- 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.
- Pagè-Manté, A.; Saubi, N.; Artigas, C. and España, E. (1997): Experimental evaluation of an inactivated vaccine against chicken anaemia virus. Avian Pathol 16: 721-729.
- Roussan, D.A. (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.
- Taniguchi, T.; Yuasa, N.; Maeda, M. and Horiuchi, T. (1983): Chronological observations on hemato-pathological changes in chicks inoculated with chicken anemia agent. Natl Inst Anim Health Q (Jpn) 23: 1-12.

- 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. (1994):* Pathology and pathogenesis of chicken anemia virus infection. *ProcIntSymp Infect Bursal Dis Chick Infect Anaemia, Rausischholzhausen, Germany*, 385-389.
- Yuasa, N. and Imai, K. (1986):* Pathogenicity and Antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA). *AvianPa-thol*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. (1980):* Maternal antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Dis* 24: 197-201.
- Yuasa, N.; Taniguchi, T.; Goda, M.; Shibatani, M. Imada, T. and Hihara, H. (1983a):* Isolation of chicken anemia agent with MDCC-MSB1 cells from chickens in the field. *NatlInst Anim Health Q (Jpn)* 23:75—77.
- 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.