

ارزیابی کارایی واکسن زنده کم خونی عفونی ماکیان در ایجاد پاسخ ایمنی یکنواخت و پایدار در یک گله مادر گوشتی



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

سال اول، شماره دوم، بهار ۱۳۸۹
صفحات ۹۵-۱۰۱

گیتا اکبری آزاد^{۱*}، پیام حقیقی خوشخو^۱، مهرداد تشکری^۱، علیرضا باهنر^۲

^۱گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

^۲دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

^۳گروه بهداشت مواد غذایی و کنترل کیفی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

* نویسنده مسئول: akbari@kia.ac.ir

چکیده

بیماری کم خونی عفونی ماکیان نوعی آنمی آپلاستیک همراه با آتروفی لنفوی و تضعیف سیستم ایمنی در جوجه های جوان است که با واکسیناسیون در مزارع مادر قابل پیشگیری است. هدف از این مطالعه ارزیابی کارایی نوعی واکسن زنده تخفیف حدت یافته Nobilis CAV P4 (Intervet Co., Netherland) در گله مادر و نتایج آنها بر اساس القای پاسخ ایمنی یکنواخت در مقایسه با یک گله مادر غیر واکسینه بود. در این بررسی یک دز واکسن زنده Nobilis CAV P4 به گله مادر گوشتی سویه راس (ROSS) ۳۰۸در سن ۶ هفتهگی زیر جلد تزریق شد. ۳۵۲ نمونه سرم از گله مادر واکسینه و غیر واکسینه از سن ۳۳-۶ هفتهگی در زمان های ۵، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۸ هفته بعد از واکسیناسیون و دو نوبت در نتایج یکروزه آنها جمع آوری و تیتراژ آنتی بادی با کیت الیزا بیماری کم خونی عفونی ماکیان (Synbiotics Corporation, USA) اندازه گیری شد. میانگین تیتراژ ضریب یکنواختی تیتراژها (CV%) و درصد تیتراژهای بالاتر از ۵۰۰۰ که نشانه حفاظت کافی در برابر بیماری است، در دو گله مادر و نتایج آنها به روش T-Test مقایسه شدند. نتایج نشان داد که گله مادر غیر واکسینه بطور طبیعی آلوده شده و تیتراژ آنتی بادی مادر و نتایج آنها بطور معنی داری بالاتر و ضریب پراکندگی آن پایین تر از گله مادر غیر واکسینه است ($P > 0.05$) اما ضریب یکنواختی تیتراژها در نتایج گله مادر واکسینه پایین تر از نتایج گله غیر واکسینه است. هم چنین در گله مادر غیر واکسینه و نتایج آنها تیتراژ صفر وجود دارد که حاکی از حساس بودن مادر و نتایج جوجه به ابتلا است در حالی که تمامی مادرهای واکسینه و نتایج آنها از نظر سرمی مثبت بودند. بنظر می رسد طبق این آزمایش واکسن قادر به ایجاد آنتی بادی بالا با محافظت کنندگی کافی برای نتایج باشد و تیتراژ آنتی بادی در مقایسه با آلودگی طبیعی درصد یکنواختی بالاتری دارد. با اینحال مطالعات بیشتری لازم است تا نیاز واکسیناسیون در این بیماری را روشن تر کند.

کلمات کلیدی: کم خونی عفونی ماکیان، گله مادر گوشتی، الیزا، واکسن زنده



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res.1(2)95-101,2010

Evaluation of the efficacy of chicken infectious anemia Vaccine in broiler breeder flock based on variation and persistency in anti-CAV antibodies titers

Haghighi-Khoshkhoo, P.¹, Tashakori, M.², Bahonar, A.³, *Akbari-Azad, G.¹

¹Department of Clinical sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University,

Karaj branch, Karaj, Iran. ²Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad

University, Karaj branch, Karaj, Iran.

³Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine,

University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author's e mail: akbari@kiaau.ac.ir

Chicken Infectious Anemia (CIA), a disease of young chickens, can be prevented by immunization of breeding flocks with live vaccines. The objective of the present work was to perform the efficacy of one attenuated live vaccine Nobilis CAV P4 (Intervet Co., Netherland) based on induction of persistent antibodies in broiler breeder and their progenies compared to unvaccinated broiler breeder flock. The vaccine administrated to Ross 308 broiler breeder flocks at 6-week old via S.C. rout. A total of 352 serum samples were collected from vaccinated and unvaccinated breeder flocks from 6 to 33 week old (5, 12, 16, 20 and 28 weeks after vaccination) and twice in their progeny flocks at one- day old. Sera were analyzed by indirect ELISA (Synbiotics Corporation, USA) and data were compared statistically between the two groups by t-test. The results showed natural infection of CIA virus in unvaccinated breeder flock and not only the mean titer was higher but also thecoefficient variant (CV%) was lower than vaccinated breeder flock significantly ($P<0.05$). But the CV% in progeny of vaccinated breeder flock was lower than the CV% in progeny of unvaccinated breeder flock. Also, there was anti-CAV antibody negative in hens and progenies in unvaccinated breeder flock, so these hens potentially can transmit the virus vertically. All breeders from vaccinated flock were positive serologically. It seemed that vaccination could be an efficient rout for eliminating susceptible birds, decreasing variation in anti-CAV antibodies titers and induction persistent antibody titer. However more experiments need to be carried out to define if vaccination really is desirable.

Keywords: Chicken infectious anemia, CIA, Broiler breeder flock, ELISA, Live vaccine

مقدمه:

بیماری کم خونی عفونی ماکیان (Chicken infectious Anemia, CIA) یکی از بیماری های مهم تضعیف کننده سیستم ایمنی در ماکیان است. ویروس CIA متعلق به خانواده سیرکو ویریده، بدون پوشش، بسیار مقاوم به عوامل فیزیکی و شیمیایی است و انتشار جهانی داشته و قابلیت انتقال افقی و عمودی دارد (۱۱). مطالعات سرولوژی انجام شده در ایران مؤید حضور این ویروس در سطح گله های پرورش ماکیان می باشد (۷). به دلیل مقاومت زیاد ویروس به مواد ضد عفونی کننده، ریشه کنی آن حتی در گله های عاری از پاتوژن (SPF) تقریباً غیر ممکن است (۳) و تنها راه مقابله با این بیماری ایجاد ایمنیت در گله های مادر به واسطه درگیری با بیماری یا واکسیناسیون می باشد. آنتی بادی مادری می تواند تا سه هفته در جوجه ها دوام داشته و آنها را در برابر بیماری محافظت کند (۵،۸،۹). گرچه اکثر مزارع مادر پس از ۱۰ هفتگی بطور طبیعی آلوده می شوند، اما به نظر می رسد به منظور ایجاد ایمنی یکنواخت تر، بالاتر و کنترل شده پیش از مرحله تولید استفاده از واکسن آن مفید باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی کارایی واکسن زنده کم خونی عفونی جوجه ها در ایجاد ایمنی علیه این بیماری در گله مادر گوشتی و مقایسه میانگین و یکنواختی تیتراژ آنتی بادی حاصل از واکسیناسیون و آلودگی طبیعی بود با فرض اینکه گله مادر گوشتی که واکسن زنده CIA دریافت داشته و همچنین نتاج آن، دارای ایمنی محافظت کننده کافی و سطح ایمنی یکنواختتر میباشند و تزریق واکسن زنده CIA به گله مادر گوشتی، از بروز تیتراژ صفر در سطح گله مادر و نتاج آن جلوگیری به عمل می آورد.

روش کار:

گله مورد مطالعه: دو واحد صنعتی پرورش مرغ مادر گوشتی از سویه راس (ROSS) ۳۰۸ واقع در استان مازندران با ظرفیت به ترتیب ۵۰۰۰ قطعه و ۴۰۰۰ قطعه در شرایط استاندارد

پرورشی بودند. نوع واکسن و نحوه تجویز: واکسن زنده کم خونی عفونی جوجه مورد استفاده در این طرح Nobilis CAV 3Log TCID₅₀ (P4) (Intervet Co., Netherland) با حداقل 26 P4 در هر دوز بود و ویروس تخفیف حدت یافته از سویه P4 26 در هر دوز بود که در سن ۶ هفتگی، یک دوز زیر جلد به یکی از گله های مادر گوشتی تزریق و به عنوان گروه واکسینه (گروه آزمایش) در نظر گرفته شد. گله مادر گوشتی دیگر به عنوان گروه کنترل منفی واکسن مذکور را دریافت نمود.

سرولوژی:

از گله مادر واکسینه در فواصل تقریباً یک ماه (۱۰ ± ۳۰ روز) به تعداد ۵ نوبت از ۶ هفتگی تا ۳۳ هفتگی در زمان های: قبل از واکسیناسیون، ۵، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۸ هفته بعد از واکسن و دو بار از جوجه های یکروزه هج شده این گله در هجری به فاصله تقریباً ۲ ماه (۲۰ و ۲۸ هفته بعد از تجویز واکسن در گله مادر) خونگیری به عمل آمد. از گله مادر غیر واکسینه نیز دقیقاً در همین فواصل خونگیری به عمل آمد. روش مطالعه آزمایش فارمی (Field Trial) بود. شرایط پرورشی، تغذیه ای و برنامه واکسیناسیون علیه سایر بیماری ها بر اساس دستورالعمل پرورش راس ۳۰۸ و وضعیت بهداشتی و بیماری منطقه بود. خونگیری به صورت تصادفی در گله های مادر از ورید بالی و در نتاج از قلب، با سرنگ ۲ میلی لیتر انجام شد. در هر نوبت خونگیری ۲۴ تا ۳۰ نمونه خون اخذ شد و در کل تعداد ۳۵۲ نمونه سرم در آزمایشگاه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا پایان دوره تحقیق جمع آوری و سپس همگی در شرایط یکسان به روش الیزا با کیت بیماری کم خونی عفونی ماکیان (Synbiotics Corporation, USA) اندازه گیری شدند. طبق دستورالعمل کیت مذکور نمونه های سرمی که مقدار نمونه به کنترل مثبت (SP) آنها کمتر و یا مساوی ۰/۴۱۰ بود معادل تیتراژ صفر و نشان دهنده عدم حضور آنتی بادی در سرم تفسیر شد. از آنجا که بنا بر مطالعات صورت گرفته عنوان می شود که مرغهای مادر با تیتراژ بالاتر از ۵۰۰۰ توانایی ایجاد محافظت

نشد و به ناچار در گله ای که تیترا آنتی بادی علیه CIA داشت آزمایش انجام گرفت. دوم اینکه: دو گروه واکسینه و غیر واکسینه در یک مزرعه پرورشی در نظر گرفته شد. طبق نتایج سرولوژی، گله کنترل منفی بطور طبیعی در سن ۹-۸ هفتگی چالش شد که منجر به بالا رفتن تیترا آنتی بادی ضد کم خونی عفونی ماکیان شد. تیترا های آنتی بادی هر گله بطور مستقل با خودش در دو مرحله قبل و بعد از واکسیناسیون (در گله واکسینه) و قبل و بعد از چالش طبیعی (در گله غیر واکسینه) در این جا آورده شده است با اینحال مقایسه تیترا آنتی بادی و برخی متغیر های وابسته به آن در دو گله منجر به یافته های جالبی شد. نتایج آزمایش الایزای سرمهای جمع آوری شده از گله های واکسینه و غیر واکسینه و نتایج آنها بترتیب در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.

در مقابل علائم کلینیکی بیماری کم خونی عفونی ماکیان در نتایج خود را دارند (۱، ۱۰)، در این مطالعه علاوه بر میانگین تیتراهای آنتی بادی ضد کم خونی عفونی ماکیان و ضریب یکنواختی (Coefficient Variance, CV) آنها در گله های مادر واکسینه و غیر واکسینه و نتایج آنها، تعداد و درصد تیتراهای آنتی بادی بالاتر از ۵۰۰۰ در هر نوبت خونگیری در دو گله مادر نیز محاسبه شد. آنالیز آماری: کلیه داده ها در نرم افزار SPSS نسخه ۱۳، به روش T-Test در دو گروه مقایسه آماری شدند.

نتایج:

اجرای این طرح با دو محدودیت مواجه شد: اول اینکه با وجود نمونه گیری های متعدد، گله مادر عاری از CIA پیدا

جدول ۱: میانگین تیترا آنتی بادی و ضریب یکنواختی در گله مادر گوشتی واکسینه و نتایج آن بر ضد کم خونی عفونی ماکیان

تعداد تیترا های صفر	درصد تیتراهای بالاتر از ۵۰۰۰	ضریب یکنواختی (CV%)	میانگین تیترا هندسی (GMT)	میانگین تیترا حسابی (AMT)	زمان خونگیری و نوع گله
-	۲۱٪	۲۹/۲۹	۳۶۰۸	۳۷۵۶	قبل از واکسن (مادر)
-	۶۷٪	۳۰/۹	۵۴۳۱	۵۷۰۱	۵ هفته بعد از واکسن (مادر)
-	۹۳٪	۲۴/۸	۷۰۰۰	۷۲۰۲	۳ ماه بعد از واکسن (مادر)
-	۸۴٪	۳۳/۱	۶۲۶۰	۶۵۳۹	۴ ماه بعد از واکسن (مادر)
-	۹۱٪	۲۳/۷	۶۵۲۹	۶۶۹۵	۵ ماه بعد واکسن (مادر)
-	-	۱۷/۸	۳۳۹۳	۳۴۳۸	۵ ماه بعد از واکسن (نتایج)
-	-	۲۷/۷	۳۵۳۲	۳۶۵۸	۷ ماه بعد از واکسن (نتایج)

ارزیابی کارایی واکسن زنده کم خونی عفونی ماکیان در ایجاد پاسخ ایمنی یکنواخت ...

جدول ۲: میانگین تیترا آنتی بادی و ضریب یکنواختی در گله مادر گوشتی غیر واکسینه و نتایج آن بر ضد کم خونی عفونی ماکیان

تعداد تیترا های صفر	درصد تیتراهای بالاتر از ۵۰۰۰	ضریب یکنواختی (CV%)	میانگین تیترا هندسی (GMT)	میانگین تیترا حسابی (AMT)	زمان خونگیری و نوع گله
-	۱۸	۲۷	۲۷۲۰	۳۰۱۰	قبل از واکسن (مادر)
-	۷۵	۳۱/۳۳	۵۸۲۴	۶۰۸۴	۵ هفته بعد از واکسن (مادر)
۵	۹۰	۳۲/۸۷	۵۹۵۹	۹۲۱۶	۳ ماه بعد از واکسن (مادر)
-	۹۵/۷	۲۶/۳	۹۲۵۵	۹۵۹۷	۴ ماه بعد از واکسن (مادر)
-	۹۵/۵	۱۹/۷۳	۹۰۷۴	۹۲۶۶	۵ ماه بعد از واکسن (مادر)
۱۲	۶۴	۵۴/۲۰	۲۰۷۷	۵۵۸۸	۵ ماه بعد از واکسن (نتاج)
-	۶۹/۶	۳۳/۸۸	۵۶۵۳	۶۰۳۹	۷ ماه بعد از واکسن (نتاج)

نتایج این مطالعه در گله مادر واکسینه:

واکسن Nobilis CAV P4 تیترا آنتی بادی را تقریباً به دو برابر افزایش داد (تیترا ۳۷۵۶ قبل واکسن در مقایسه با تیترا ۶۵۳۴ ناشی از میانگین کل تیترا های بعد از واکسن).

واکسن Nobilis CAV P4 درصد تیترا آنتی بادی بالاتر از ۵۰۰۰ را به ۴ برابر افزایش داد (۲۱٪ قبل از واکسن در مقایسه با ۸۳/۷٪ ناشی از تیترا های بالاتر از ۵۰۰۰ در ۴ نوبت خونگیری).

ضریب یکنواختی مطلوب معمولاً ۳۰٪ و کمتر در نظر گرفته می شود. در این مطالعه CV٪ در ۷ نوبت خونگیری گله مادر و نتاج، به استثنای یک نوبت خونگیری (با CV٪=۳۳) همگی پایین تر از ۳۰٪ بوده است. ضریب یکنواختی گله مادر واکسینه شده در مقایسه با قبل از واکسن، فقط ۱/۲٪ بهبود یافت (۲۹/۲۹٪ قبل از واکسن در مقایسه با ۲۸/۲۳٪ ناشی از میانگین ضریب یکنواخت در ۴ نوبت خونگیری). حدود ۵۱٪ تیترا آنتی بادی مادری به نتاج منتقل می شود (نسبت تیترا ۶۶۹۵ در مادر به تیترا ۳۴۳۸ در نتاج در خونگیری

هم زمان) به نظر می رسد تیترا آنتی بادی ناشی از واکسن دوام مناسبی داشته باشد. تیترا آنتی بادی در مادر بعد از رسیدن به اوج (سه ماه بعد از واکسن) به میانگین ۷۲۰۲ می رسد و پس از گذشت ۵ ماه بعد از واکسن به ۶۶۹۵ می رسد. هم چنین مقایسه تیترا آنتی بادی در دو سری نتاج با فاصله تقریباً ۲ ماه نشان می دهد که تیترا آنتی بادی در نتاج کاهش نیافته است (تیترا ۳۴۳۸ در نتاج اول و تیترا ۳۶۵۸ در نتاج ۷ هفته بعد).

در ۴ نوبت خونگیری بعد از واکسن در گله مادر و ۲ نوبت در نتاج، هیچ تیترا صفری مشاهده نشد.

نتایج این بررسی در سطح گله مادر غیر واکسینه:

آلودگی طبیعی تیترا آنتی بادی را بشدت افزایش داد که این تیترا بطور معنی داری بالاتر از تیترا ناشی از واکسیناسیون بود ($P < 0.05$). این تیترا بالا می تواند بدلیل برخورد پرند با تعداد ویروس بیشتر نسبت به واکسن باشد زیرا دوز ویروس در میزان القای آنتی بادی و تیترا حاصله موثر است.

بعلت بالا بودن تیترا آنتی بادی، بالطبع تعداد و درصد تیتراهای بالاتر از ۵۰۰۰ در گله مادر نیز بالا تر از گله واکسینه بود. حدود ۶۱٪ تیترا آنتی بادی مادری به نتاج منتقل می شود (نسبت تیترا ۹۲۶۶ در مادر به تیترا ۵۵۸۸ در نتاج در خونگیری هم زمان). بالاتر بودن این درصد انتقال در مقایسه با ۵۱٪ انتقال در گله واکسینه ممکن است ناشی از بالاتر بودن سطح آنتی بادی در گله غیر واکسینه باشد. در یک نوبت خونگیری در گله مادر ۵٪ و در یک نوبت خونگیری در نتاج ۱۲٪ دارای تیترا صفر بودند. ۵- میانگین CV٪ در نتاج ۴۴٪ بود که در مقایسه با گله واکسینه (۲۲/۷٪) حدوداً نسبت ۲ برابر را نشان می داد.

بحث و نتیجه گیری:

طبق مطالعات صورت گرفته در مورد شیوع سرمی بیماری کم خونی عفونی ماکیان در ایران و جهان به نظر می رسد اکثر گله های مادر تیترا آنتی بادی علیه این بیماری را دارند و این مسئله می تواند اهمیت و ارزش واکسیناسیون علیه این بیماری را کم رنگ کند (۷، ۴، ۵). به عنوان مثال در این آزمایش، تیترا آنتی بادی و تعداد تیتراهای بالاتر از ۵۰۰۰ در گله مادر غیر واکسینه با ابتلای طبیعی در مقایسه با گله مادر واکسینه بالاتر است. علت اندازه گیری تیتراهای بالاتر از ۵۰۰۰ با این نوع کیت الیزا در واقع استفاده از نتایج مطالعات Canal و همکارانش بر پایه ارتباط بین خنثی سازی ویروس و تیترا الیزا بود که عنوان کردند در مرغهای مادر تیتراهای الیزا بالاتر از ۵۰۰۰، نتاج را بطور کامل از بیماری کلینیکی در طول دوره زندگی محافظت میکند و در نتایج آزمایش در برزیل نشان دادند که در گله های مادر واکسینه ۹۹٪ مرغها تیترا آنتی بادی بالای ۵۰۰۰ داشته و ۱٪ تیترا بین ۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ داشتند ولی در گله های غیر واکسینه ۵۲٪ تیترا بالاتر از ۵۰۰۰ و ۴۷٪ تیترا زیر ۵۰۰۰ داشتند (۱). نتایج مطالعات مختلف نشان می دهد واکسن می تواند تیترا آنتی بادی بالاتر، بادوام تر و یکنواخت تری نسبت به تیترا ناشی از آلودگی طبیعی در گله مادر ایجاد کند که بالطبع در نتایج ایمنیت کامل تر و مطمئن تری ایجاد خواهد کرد (۱، ۱۰). در این

آزمایش کمترین و بیشترین تیترا در گله مادر غیر واکسینه ۱۵۹۴۴ و صفر و در گله مادر واکسینه ۲۰۷۸ و ۱۵۱۶۱ بود. هم چنین دوام تیترا در گله مادر واکسینه پس از گذشت ۵ ماه حدود ۷٪ افت می کند. این افت در گله مادر غیر واکسینه که طبیعی چالش شده بود حدود ۳٪ بود. Kapetanov و همکارانش، بیشترین میانگین تیترا در گله مادر غیر واکسینه را در ۱۸ هفتگی اعلام کردند (۶). از یافته های این آزمایش، وجود تیترا صفر در گله غیر واکسینه بود که خود یافته قابل تاملی می باشد. در یک نوبت خونگیری در گله مادر ۵٪ و در یک نوبت خونگیری در نتاج آنها ۱۲٪ دارای تیترا صفر بودند. تیترا صفر در گله مادر و بالطبع در نتاج آنها موقعیت خطرناکی را برای جوجه های نتاج خصوصاً در سن ۳ تا ۴ هفتگی ایجاد میکند (۱۲، ۲) هم چنین ضریب یکنواختی تیتراهای آنتی بادی (CV٪) در نتاج گله مادر غیر واکسینه کمتر از نتاج گله مادر واکسینه بود. میانگین CV٪ تیتراهای آنتی بادی در نتاج گله مادر غیر واکسینه ۴۴٪ بود که در مقایسه با گله مادر واکسینه (۲۲/۷٪) حدوداً نسبت ۲ برابر را نشان می داد که خود نشان دهنده بالاتر بودن یکنواختی تیترا در مادران واکسینه است. طبق نتایج فوق در پایان می توان چنین نتیجه گیری کرد که نقطه قوت استفاده از واکسن زنده کم خونی عفونی جوجه ها در این آزمایش افزایش یکنواختی تیترا آنتی بادی در نتاج گله مادر واکسینه بوده است و اینکه تمامی نتاج این گله سطح قابل قبولی از آنتی بادی را از مادران خود دریافت کرده اند. با اینحال بنظر می رسد آزمایشات تکمیل تری لازم است تا نقش واکسیناسیون را واضح تر نشان دهد و تاثیر واکسن را در راندمان های پرورشی نتاج جستجو و تعقیب کند.

تشکر و قدردانی:

این طرح تحقیقاتی با همکاری جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به سرانجام رسیده است. بدینوسیله از مساعدت این مرکز تشکر و قدردانی می شود.

References:

- 1- Canal, C.W., Ferreira, D.J., Macagnan, M., Fallavena, L.C.B., Moraes, H.L.S., Wald, V.B. (2004), Prevalence of antibodies against chicken anaemia virus (CAV) in broiler breeders in Southern Brazil, *Pesq. Veterinary Brazil*, 24 (2) 89-92.
- 2- Davidson, I., Shkoda, I., Elkin, N., Ayali, G., Hamzani, E., Kass, N., Smith, B., Borochovitsh, H., Gilat, G., Krispin, H., Kedem, M., Perk, S. (2004), Chicken infectious anemia in young broiler flocks in Israel, *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 59 (4) 78-82.
- 3- Fadly, A.M., Motta, J.V., Witter, R.L., Nordgren, R.M. (1994), Epidemiology of chicken anemia virus in SPF chicken breeder flocks, proceeding International Symposium Infectious Bursal Disease and Chicken Infectious Anemia, Germany, pp: 447- 455.
- 4- Goodwin, M.A., Brown, J., Smeltzer, M.A., Cary, C.K., Girshick, T., Miller, S.L., Dickson, T.G. (1990), A survey for Chicken anemia agent antibodies in broiler breeders, *Avian Diseases*, 34: 704-708
- 5- Jorgensen, P.H. (1990), A micro scale serum neutralization test for the detection and titration of antibodies to chicken anemia agent- prevalence of antibodies in Danish chickens, *Avian Pathology*, 19: 583-593.
- 6- Kapetanov, M., Orli, D., Velhner Maja, Koari Slavica and lazij, S. (2003), Clinical and serological examination of a parental flock latently infected with Chicken Anemia Virus, *Acta Veterinaria*, 53 (4) 239-248
- 7- Mahzounieh M., Karimi, I., Zahraei Salehi, T. (2005), Serologic evidence of Chicken Infectious Anemia in commercial chicken flocks in Shahrekord, Iran, *IntentionalJournal of Poultry Science*, 4 (7) 500-503.
- 8- McNulty, M.S., Connor, T.J., Mcneilly, F., Kirkpatrick, K.S., McFerran, J.B. (1988), A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anemia agent. *Avian Pathology*, 17:315-324
- 9- Otaki, Y., Saito, K., Tajima, M., Nomura, Y. (1990), Persistence of maternal antibody to chicken anemia agent and its effect on the susceptibility of young chickens. *Avian Pathology*, 21:147-151
- 10- Roussan, D.A. (2006), Serological survey on the prevalence of chicken infectious anemia virus in commercial broiler chicken flocks in Northern Jordan, *IntentionalJournal of Poultry Science*, 5 (6) 544-546.
- 11- Schat, K.A., Van Santen, V.L. in *Diseases of poultry* (2008), Chicken infectious anemia, 12thed. United State, Blackwell, pp: 211-227
- 12- Yuasa, N. (1994), Pathology and pathogenesis of chicken anemia virus infection, proceeding International Symposium Infectious Bursal Disease and chicken infectious anemia. Germany, pp: 385-90.