

Virus 중화시험법에 의한 닭 빈혈성인자의 항체조사

류 광 선·고 홍 범
전남대학교 수의과대학
(1993년 2월 16일 접수)

Survey of antibody to chicken anemia agent by virus neutralization test

Gwang-seon Ryoo, Hong-bum Koh
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
(Received Feb 16, 1993)

Abstract : A serological survey for antibody to chicken anemia agent(CAA) was carried out by virus neutralization test. Antibody to CAA was detected in broilers and layers at different age groups.

The results obtained were summarized as follows :

1. Of a total of 1,035 chicken sera from 116 flocks 617 samples of sera were detected as positive (59.6%) and 95 flocks of a total flocks as positive (81.9%).
2. Proportion of positive sera by age were 92.3% (88.9~100%) at 1 to 2 weeks of age, 56.4%(16.7~77.8%) at 3 to 9 weeks of age, 85.0%(50.0~100%) at 10 to 14 weeks of age and all tested sera were positive at over the 15 weeks age.
3. In each broiler and layer chicken 63.6% and 68.4% chicks possessed positive sera respectively.
4. Neutralizing antibody titer in age group was various from 1 : 10 to 1 : 6,400 and mean titer was 1 : 400 to 1 : 800.

Key words : chicken anemia agent, field chicken sera, virus neutralization test, broiler, layer.

서 론

닭 빈혈성인자(chicken anemia agent, CAA)는 1979년 일본에서 세망내피증 바이러스(reticuloendotheliosis virus, REV)에 오염된 마렉병(Marek's disease, MD)백신을 연구하던중 최초로 분리 보고되었다.¹ CAA는 ether와 chloroform과 같은 지질용매 및 pH 3에 대한 저항성과 70°C의 1시간 가열, 80°C의 15분 가열에도 병원성을 상실하지 않는 열에 대한 저항성을 갖고 있으며, 외피막이 없고 직경 18~26.5nm의 구형인 아직 미분류된 바이러스이다.^{1~10}

CAA는 산란계에 접종시 그 후대 병아리에서 빈혈의 관찰과 CAA가 분리됨으로 난계대 전염이 증명되었으며, 접촉감염과 오염된 백신의 접종에 의해서도 감염

이 이루어진다.^{11~13} 이 바이러스를 실험적으로 1일령의 SPF 병아리에 근육접종하면 14일후 Ht치가 20%이하인 극심한 빈혈을 초래하며, 육안적으로는 수양성의 혈액, 흉선과 Fabricius낭의 현저한 위축, 지방변성에 의한 대퇴골수의 황백색화, 간의 종대와 탈색이 일어나며 때때로 골격근과 선위점막의 출혈이 관찰되었고,^{1,4,7,9,10,14,15} 또한 주요한 현미경적 소견으로는 골수조혈세포의 형성부전과 흉선, F낭, 비장, 맹장편도와 같은 면역장기에서의 심한 임파구 소실 등을 보였다. 그러나 2주령 이상의 병아리에 접종시는 이러한 병변이 관찰되지 않아 연령에 따른 감수성의 차이가 있다.^{1,4,16,17}

CAA는 감수성 있는 닭에 골수의 형성부전을 동반한 극심한 빈혈과 임파기관의 위축에 의한 면역억제를 일으켜 2차적으로 다른 virus성, 세균성, 곰팡이성 질병에

대한 감수성의 증가를 일으킨다.^{1, 14, 16, 18, 19}

이 질병은 일본, 미국, 브라질, 덴마크, 스웨덴, 영국, 한국 등을 비롯한 세계의 여러나라에서 바이러스의 분리와 혈청학적인 조사에 의해 광범위하게 분포되어 있음이 밝혀졌다.^{2, 4~7, 9, 10, 12, 20~25}

현재까지 CAA의 항체검사법으로는 간접형광항체법(indirect immunofluorescence antibody technique, IFA)²⁴, 바이러스 중화시험(virus neutralization test, VN)^{21, 26~28}, 효소면역항체법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)²⁹ 등의 방법이 이용되고 있다. 항체검사법으로서는 간편하고 시간소비가 적어 경제적인 간접형광항체법²⁴과 많은 혈청을 동시에 조사할 수 있는 ELISA법²⁹이 이용되고 있으나 바이러스 중화시험에 비해 민감도가 떨어질 뿐만 아니라 위양성이나 위음성의 결과를 초래한다는 것이 보고되어 있다.²⁷

각 나라별 야외계군에 대한 항체보유상황을 보면 간접형광항체법으로 실시한 미국, 영국, 일본 등의 경우 계군별로 각각 79.3%, 90.0% 그리고 97.5%로 나타났으며^{12, 22, 24}, 바이러스 중화시험으로 실시한 덴마크의 경우 89.7%의 계군별 항체보유율을 나타내었다.²¹

국내의 CAA 발생조사는 1991년 김³⁰이 간접형광항체법을 이용하여 야외계군의 항체보유상황을 조사한 결과 39계군중 29계군(74%)이, 425수중 226수(53%)가 항체를 보유하고 있는 것으로 보고하였으며 또한 성과 김²⁵이 괴저성 피부염 등으로 높은 폐사율을 보이는 10주령의 산란계와 대장균증 및 홍선위축이 심한 10주령의 육용종계군으로부터 2주의 CAA를 분리보고하였다.

본 실험은 광주를 비롯 전남·북지역내 사육중인 야외계군으로부터 혈청을 채취하여 바이러스 중화시험으로 CAA에 대한 계군별, 개체별 그리고 육용계와 산란계의 연령별 항체보유상황을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

바이러스 : MDCC-MSB1 세포에서 45번 계대된 CAA82-2주를 Otaki 씨(Nippon Institute for Biological Science, Japan)로부터 분양받아 사용하였다.

혈청 : 중화시험에 사용된 혈청은 1991년 2월부터 1992년 7월까지 광주시와 전라남북도 지역내 양계농장에서 채취한 116계군에서 총 1,035수의 혈청을 대상으로 실시하였다. 채취한 모든 혈청은 시험하기전 56°C, 항온수조에서 30분간 비동화시킨 다음 사용하였다.

세포배양 : MDCC-MSB1세포주는 서울대학교 수의과대학 조류질병학 교실에서 분양받아 사용하였다. 세포배양은 streptomycin(100 µg/ml), penicillin(100 unit/ml), kanamycin(100 µg/ml)과 tryptose phosphate broth

(10%), 비동화한 우태아혈청(fetal calf serum, 10%)을 첨가한 RPMI-1640배지(Sigma, USA)에 2×10^5 cells/ml의 세포농도가 되도록 조정하여 6 well plate(Nunc, Denmark)에 5ml씩 분주하여 39°C, 5% CO₂ 배양기 내에서 배양하였다. 계대배양은 새로운 증식배지 4ml에 1ml의 배양세포 부유액을 첨가하여 부유시키는 방법으로 실시하였다(Fig 1).

항혈청 및 음성혈청 : CAA 82-2주에 대한 항혈청과 음성혈청을 Otaki 씨로부터 분양받아 사용하였다.

중화시험용 항원 : CAA 82-2주를 MDCC-MSB1세포(2×10^5 cells/ml)에 1 : 8로 접종하여 배양한 다음, 48시간 후 계대배양을 실시하였다. 이후 세포변성효과(total cytopathic effect)가 나타나면 배양세포를 수확하여 3회 얼렸다 녹였다 반복한 다음 4,000rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액을 -70°C에 보관하면서 중화시험용 항원으로 사용하였다.

바이러스 중화시험 : CAA에 대한 중화시험은 Otaki et al²⁷의 방법을 변형하여 실시하였다. 96 well flat bottom microplate(Nunc, Denmark)에 혈청을 Phosphate buffered saline(PBS ; 8g NaCl, 0.2g KCl, 1.15g Na₂HPO₄, H₂O 1L, pH 7.2)으로 각각 1 : 10과 1 : 100되게 희석한 다음 동량의 CAA(10^6 TCID₅₀/0.1ml)를 첨가한 후 잘 혼합시켜 39°C에서 40분동안 반응시켰다. 바이러스와 혈청혼합액 20 µl를 well당 200 µl의 MDCC-MSB1(2×10^5 cells/ml)세포가 분주되어 있는 새로운 microplate에 첨가시켜 39°C의 5% CO₂ 배양기내에서 배양시켰다. 계대배양은 2~3일후 새로운 증식배지 200 µl에 세포부유액 20 µl를 첨가하는 방법으로 실시하였으며, 계대배양 3~4일후 도립현미경으로 CPE를 관찰하였다. 대조 음성혈청과 양성혈청도 동일한 방법으로 실시하였다.

중화항체가 측정 : 각 주령별로 항체양성인 혈청을 1 : 10부터 1 : 12,800까지 계단희석하여 중화항체를 측정하였다. 혈청중의 중화항체는 바이러스에 의한 세포변성을 완전히 억제하는 최고 혈청희석배수의 역수로서 표시하였다.

CAA의 감염역가 측정 : MDCC-MSB1세포 농도가 2×10^5 cells/ml 되도록 well당 1ml씩 분주한 24 well plate(Nunc, Denmark)에 10¹부터 10⁻⁷까지 10배수 계단희석한 CAA 82-2주를 0.1ml씩 접종하였다. 각 희석배수당 6개의 well을 사용하였으며, 계대배양은 이틀마다 새로운 증식배지 1ml에 세포부유액 0.2ml를 혼합하는 방법으로 11회까지 실시한 다음 감염역가를 측정하였다.

결 과

중화시험에 의한 야외계군의 항체보유상황 :

1. 연령에 따른 계군별, 개체별 항체 보유상황 : 중화시험으로 야외계군의 CAA에 대한 항체보유상황을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 계군별로는 총 116계군중 95계군(81.9%)에서, 개체별로는 총 1,035수중 617수(59.7%)에서 중화항체를 보유한 것으로 나타났으며, 연령에 따른 항체보유상황을 보면 1~2주령에서는 계군별 92.3%, 개체별 81.9%로 높았으나, 3~9주령에서는 계군별 56.4%, 개체별 23.3%로 비교적 낮게 나타났으며, 10주령 이상에서는 계군별 95.3%, 개체별 81.5%로 나타났다.

2. 육용계와 산란계의 항체보유상황 : 육용계와 산란계의 1주령부터 9주령까지 각 주령별로 나타난 항체보유상황은 Table 2와 같다. 육용계는 총 33계군중 21계군(63.6%)에서, 산란계는 총 19계군중 13계군(68.0%)에서 항체를 보유하고 있는 것으로 나타났으며, 개체별로는 각각 총 223수중 86수(38.6%)에서, 283수중 100수

(35.3%)에서 항체를 보유하고 있다.

중화항체가 측정 : 항체양성을 나타내는 116개의 혈청을 대상으로 중화항체를 측정하여 나타난 결과는 Table 3과 같다. 혈청 희석배수 1:10~1:6,400까지 다양하게 나타났으며 평균중화항체가는 1:400~1:800사이로 나타났다.

MDCC-MSB1 세포에서 CAA의 감염역가측정 : 10⁻¹부터 10⁻⁷까지 10배수 계단희석하여 실시한 CAA 82-2의 감염역가측정 결과는 Table 4와 같다. 5회까지의 계대배양시는 10⁻¹부터 10⁻⁴ 희석배수의 모든 well에서 세포가 사멸되었으나 9회의 계대배양 이후부터는 Table 4와 같이 10⁻⁵부터 10⁻⁷ 희석배수까지 동일하게 나타났으며, CAA 82-2의 감염역가는 10⁶TCID₅₀/0.1ml로 나타났다(Kärber method).

CAA접종한 세포의 형태 : 감염된 세포는 종대되고, 포도송이 모양의 형상을 유지하며, 세포모양이 다양한 세포 변성효과가 관찰되었으며, 세포성장의 억제와 용해로 인해 결국 계대배양이 불가능하게 되었다(Fig 2).

고 찰

CAA는 1979년 Yuasa¹에 의해 최초로 분리보고된 이래 세계 여러나라의 야외계군 및 SPF계군에서도 항체를 보유하고 있는 것으로 알려졌다.^{1, 2, 4-6, 12, 20, 22}

현재까지 알려진 CAA에 대한 항체 조사방법은 간접형광항체법²⁴, 바이러스 중화시험^{21, 26-28} 및 ELISA²⁹ 등이 있는데, 간접형광항체법은 간단하고 빠르게 수행할 수 있다고 알려져 있어 가장 일반적으로 실시되고 있는 방법이나 민감도에 있어서는 바이러스 중화시험보다 덜 하며 위양성 또는 위음성의 결과를 가져오는 단점이 있다.^{24, 27, 29} ELISA는 많은 양의 혈청을 빠르고 간편하

Table 1. Prevalence of antibodies to CAA by the virus neutralization test

Age(weeks)	Positive flocks ^a (%)	Positive sera ^b (%)
1~2	12/13(92.3)	95/116(81.9)
3~9	22/39(56.4)	91/390(23.3)
10~14	17/20(85.0)	85/155(54.8)
15~20	8/8 (100)	47/58 (81.0)
≥21	36/36(100)	299/316(94.6)
Total	95/116(81.9)	617/1,035(59.6)

a. Number of flocks with at least one positive serum/number of flock tested.

b. Number of positive sera/number of sera tested.

Table 2. Comparison between broilers and layers in prevalence of antibodies to CAA

Age (weeks)	Broilers		Layers	
	Positive flocks ^a (%)	Positive flocks ^b (%)	Positive flocks(%)	Positive sera(%)
1	2/2(100)	13/14(92.9)	2/2 (100)	39/40(97.5)
2	6/7(85.7)	19/33(57.6)	2/2 (100)	24/29(82.8)
3	5/7(71.4)	19/47(40.4)	2/2 (100)	19/37(51.4)
4	4/6(66.7)	21/50(42.0)	2/3(66.7)	5/45(11.1)
5	1/5(20.0)	1/40(2.5)	0/1 (0)	0/21 (0)
6	1/3(33.3)	3/19(15.8)	2/2 (100)	2/20(10.0)
7	1/2(50.0)	1/11(9.1)	1/2(50.0)	3/21(14.3)
8	— ^c	—	2/3(66.7)	8/42(19.0)
9	1/1(100)	9/9 (100)	0/2 (0)	0/28 (0)
Total	21/33(63.6)	86/223(38.6)	13/19(68.4)	100/283(35.3)

a. Number of flock with at least one positive serum/number of flocks tested.

b. Number of positive sera/number of sera tested.

c. Not tested.

Table 3. Distribution of serum antibody titres against CAA in 116 positive sera

Age (weeks)	Virus neutralising antibody titre*							
	10	100	200	400	800	1600	3200	6400
1~2	1	1	1	6	2	1		
3~9	10	9		6	2	1	1	1
10~15		5	1	4	3	5	3	2
16~20		1		1	4	8	1	
21~30			1		1	2	4	
31~40				1	1	2	2	2
41~50		3	1	1	2			1
≥51	1		2	3	3	2	1	
Total	12	19	6	22	18	21	12	6

* Reciprocal of the highest serum dilution.

Table 4. Titration of CAA 82-2 in MDCC-MSB1 cells

Dilution of CAA 82-2	Number of culture wells inoculated	Number of passage												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
10 ⁻¹	6	0*	6											
10 ⁻²	6	0	0	6										
10 ⁻³	6	0	0	0	6									
10 ⁻⁴	6	0	0	0	0	6								
10 ⁻⁵	6	0	0	0	0	0	3	4	4	5	5	5		
10 ⁻⁶	6	0	0	0	0	0	2	2	3	3	3	3		
10 ⁻⁷	6	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1		
Uninoculated	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Number of wells in which cells died.

게 처리할 수 있으며, CAA에 대한 항체검출에 있어서 간접형광항체법과 98% 이상의 일치율을 나타내었다고 보고되었으나³¹ 아직까지는 널리 사용되지 않고 있다.

바이러스 중화시험은 일반적으로 6번 이상의 세포계 대배양을 요하기 때문에 간접형광항체법이나 ELISA에 비해 시간소비가 많다고 알려져 있으나^{29,32}, 최근 Otaki et al²⁷은 10^{5.5} TCID₅₀/0.1ml 이상의 감염역가를 가진 CAA를 사용하여 단 1번의 계대배양만으로 중화항체를 검출할 수 있을 뿐만 아니라 간접형광항체법이나 ELISA보다 민감도와 특이성이 높으며 많은 양의 혈청을 빠른 시간내에 검사할 수 있었다. 따라서 본 실험에서도 10⁶ TCID₅₀/0.1ml의 감염역가를 가진 CAA를 사용하여 Otaki et al²⁷이 실시한 바이러스 중화시험을 변형하여 실시하였다.

본 실험의 야외계군에 대한 항체조사결과 1~2주령의 계군에서는 13계군중 12계군(92.3%)이, 116수중 95수(81.9%)가 CAA에 대한 항체를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 이는 Yuasa et al²⁸이 실험감염을 통해 1일령의 병아리에 CAA를 접종하면 약 3주령때 중화항체가 검출되는 것으로 보아 본 실험에 나타난 2주령 이하의 항체는 모체이행항체로 생각된다.

McNulty et al¹²은 실험계군에서 주기적으로 CAA에

대한 항체를 조사한 결과 약 3주령까지만 모체이행항체가 존재하다가 이후 음성으로 지속된 후 8~9주령때 다시 항체양성으로 검출되는 것으로 보고하였다. 본 실험 결과 3~7주령의 계군에서 33계군중 19계군(57.6%)이, 264수중 74수(28.0%)가 항체양성으로 나와 1~2주령때 보다 훨씬 낮게 검출되었으나, 10주령 이상의 계군에서는 64계군중 61계군(95.3%)이, 529수중 431수(81.5%)가 항체양성으로 검출되어 McNulty et al¹²의 결과와 유사함을 알 수 있었다. 육용계와 산란계의 항체보유상황을 비교해 본 결과 1~2주령까지 육용계는 9계군중 8계군에서, 산란계는 4계군 전부에서 항체를 보유하고 있었으나, 개체별로는 각각 47수중 32수(68.1%)에서, 69수중 63수(91.3%)에서 항체를 보유하고 있었다. 이같이 개체별 항체보유율에 많은 차이가 나타난 것은 Yuasa et al³¹이 보고한 것과 같이 모체이행항체의 유무에 따른 것으로 판단된다. 또한 본 실험에서 1~9주령까지의 육용계와 산란계의 개체별 항체보유율이 각각 38.6%, 35.3%로 별 차이가 없는 것으로 나타나 CAA에 대한 감수성에 유전적인 요소가 관여치 않는다는 Yuasa et al³¹의 보고와 일치하였다.

Yuasa et al²⁴은 일본에서 간접형광항체법으로 20주령에서 68주령까지의 종계를 대상으로 CAA에 대한 항체

조사를 실시한 결과 40계군중 39계군(97.5%)에서, 381수중 357수(93.7%)에서 항체를 보유한 것으로 보고하였는데, 바이러스 중화시험으로 실시한 본 실험에서도 20주령 이상의 계군에서는 조사한 37계군 전부에서 CAA에 대한 항체를 보유하고 있는 것으로 나타났으며, 개체별로는 323수중 306수(94.7%)에서 항체양성을 보여 Yuasa et al²⁴의 경우와 거의 유사하게 나타났다.

한편 McNulty et al¹²은 영국에서 간접형광항체법으로 8주령에서 60주령까지의 육용종계를 대상으로 실시하여 89계군중 86계군(96.6%)에서, 495수중 356수(71.9%)에서 CAA에 대한 항체를 보유한 것으로 보고하였는데 역시 본 실험에서도 8주령에서 60주령까지 66계군중 60계군(90.9%)에서, 583수중 423수(72.6%)에서 항체를 보유하고 있는 것으로 나타나 McNulty et al¹²의 경우와 비슷한 결과를 나타내었다.

덴마크 Jorgensen²¹은 5주령에서 80주령까지의 육용순계, 육용종계, 육계, 산란종계, 산란계를 대상으로 바이러스 중화시험을 실시한 결과 97계군중 87계군(89.7%)에서, 1,161수중 861수(74.2%)에서 CAA에 대한 항체를 보유하고 있는 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 5주령에서 80주령까지 85계군중 70계군(82.4%)에서, 740수중 458수(61.9%)에서 CAA에 대한 항체를 보유하고 있음이 밝혀져 Jorgensen²¹의 경우보다 더 낮은 항체보유상황을 나타내었다.

국내에서는 김³⁰이 간접형광항체법을 이용하여 야외계군의 CAA에 대한 항체보유상황을 조사한 결과 39계군중 29계군(74%)에서, 425수중 226수(53%)에서 항체를 보유하고 있는 것으로 보고 하였으나, 바이러스 중화시험으로 실시한 본 실험에서는 116계군중 95계군(81.9%)에서, 1,035수중 617수(59.6%)에서 항체를 보유하고 있음이 밝혀져 이 보다 높은 항체보유상황을 나타내었다. 이러한 차이는 가검혈청의 수, 가검혈청의 채취지역, 검사방법의 차이 등에 의해 기인된 것으로 사료된다.

각 나라별 야외계군의 CAA에 대한 항체보유상황은

미국, 영국, 일본, 덴마크 등의 경우 계군별로 각각 79.3%, 90.0%, 97.5% 그리고 89.7%이었다. 본 실험에 나타난 국내 계군의 항체보유상황은 위의 나라들 보다는 더 낮게 검출되었으나 비교적 높은 비율로 CAA에 대한 항체를 보유하고 있음이 밝혀졌다.

CAA는 IBDV, REV, HVT 및 reovirus와 혼합감염시 질병의 상태가 심각해지고 연령에 따른 저항성도 소실되는 것으로 보고되고 있다.^{9,7,33~35} 따라서 이러한 복합감염형태에 의한 국내 양계질병의 피해를 최소화하기 위해서는 이에 대한 기병론의 연구가 다각적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

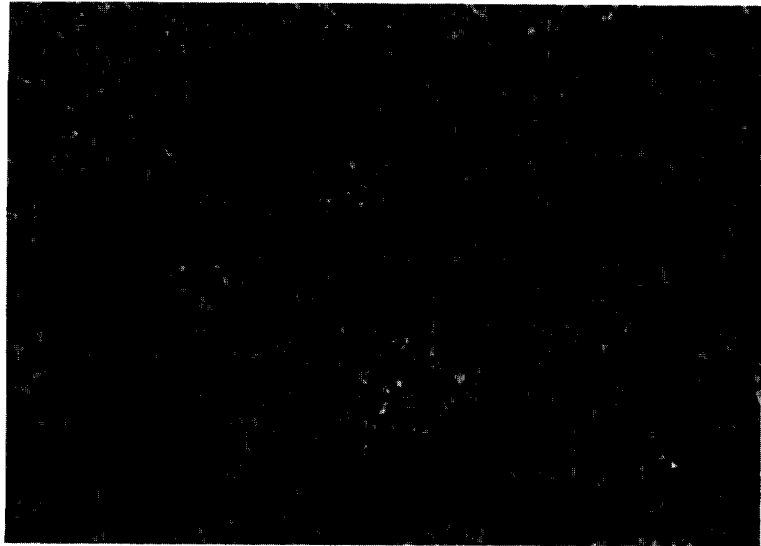
바이러스 중화시험에 의한 닭 빈혈성인자의 항체보유상황을 조사하기 위하여 야외계군으로 부터 채취한 혈청을 1:10, 1:100으로 희석하여 동량의 virus로 반응시킨 다음 6~7일후 세포변성 효과의 출현에 의해 판독하였다. 또한 주령별로 항체양성을 나타낸 혈청을 선택, 1:10부터 1:12,800까지 계단희석하여 중화항체가를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 총 1,035수중 617수(59.6%)에서 항체를 보유하고 있었으며, 계군별로는 총 116개의 계군중 95개의 계군(81.9%)에서 항체를 보유하고 있는 것으로 나타났다.
2. 연령에 따른 항체보유상황을 보면 1~2주령(1~14일령)의 계군에서는 92.3%(88.9%~100%), 3~9주령(15~63일령)의 계군에서는 56.4%(16.7~77.8%), 10~14주령(64~98일령)의 계군에서는 85.0%(50.0~100%), 15주령 이상(99일령이상)의 계군에서는 조사대상의 모든 계군(100%)에서 항체가 검출되었다.
3. 육용계와 산란계의 항체보유상황을 보면 1~9주령까지의 계군별로 각각 63.6%와 68.4%로 나타났다.
4. 주령별 중화항체가를 보면 혈청희석배수 1:10~1:6,400까지 다양하게 나타났으며 평균중화항체가는 1:400~1:800 사이로 나타났다.

Legends for figures

Fig 1. Normal MDCC-MSB1 cells. × 200.

Fig 2. MDCC-MSB1 cells after inoculation with CAA 82-2. × 200. The cells are enlarged and show cytopathic effects.



참 고 문 헌

1. Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis* 1979 ; 23 : 366~385.
2. Engstrom BE. Blue wing disease of chickens : Isolation of avian reovirus and chicken anaemia agent. *Avian path* 1988 ; 17 : 23~32.
3. Goodwin MA, Brown J, Miller AL, et al. Infectious anemia caused by parvovirus-like virus in Georgia broilers. *Avian Dis* 1989 ; 33 : 438~445.
4. Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S, et al. Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian path* 1985 ; 14 : 483~496.
5. Goryo M, Suwa T, Matsumoto S, et al. Serial propagation and purification of chicken anaemia agent in MDCC-MSB1 cell line. *Avian Path* 1987 ; 16 : 149~163.
6. Liana Brentano, Nelson Mores, Ingon Wentz, Dhammi Chandratilleke, and Karel A. Schat. Isola-

- tion and identification of chicken infectious anemia virus in Brazil. *Avian Dis* 1991 ; 35 : 793~800.
7. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F, et al. Chicken anemia agent in the United States : Isolation of the virus and detection of antibody in broiler breeder flocks. *Avian Dis* 1989 ; 33 : 691~694.
 8. McNulty MS, Curyan WL, Todd D, et al. Chicken anemia agent : an electron microscopic study. *Avian Dis* 1990 ; 34 : 734~736.
 9. Otaki Y, Nunoya T, Tajima M, et al. Isolation of chicken anaemia agent and Marek's disease virus from chickens vaccinated with turkey herpesvirus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. *Avian Path* 1987 ; 16 : 291~306.
 10. Rosenberger JK, Sandra SC. The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broilers in the United States. *Avian Dis* 1989 ; 33 : 707~713.
 11. Chettle NJ, Eddy RK, Wyeth PH, et al. An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. *Veterinary Record* 1989 ; 124 : 211~215.
 12. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F, et al. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anaemia agent. *Avian Path* 1988 ; 17 : 315~324.
 13. Yuasa N, Yoshida I. Experimental eggs transmission of chicken anemia agent. *Natl Inst Anim Health Q(Jpn)* 1983 ; 23 : 99~100.
 14. Goryo M, Suwa T, Umemura T, et al. Histopathology of chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803). *Avian Path* 1989 ; 18 : 73~89.
 15. Yuasa N, Imai K. Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA). *Avian Path* 1986 ; 15 : 639~645.
 16. Taniguchi T, Yuasa N, Maeda M, et al. Hematopathological changes in dead and moribund chicks induced by chicken anemia agent. *Natl Inst Anim Health Q(Jpn)* 1982 ; 22 : 61~69.
 17. Yuasa N, Taniguchi T, Noguchi T, et al. Effect of infectious bursal disease virus infection on incidence of anemia by chicken anemia agent. *Avian Dis* 1980 ; 24 : 202~209.
 18. Goryo M, Suwa T, Umemura T, et al. Ultrastructure of bone marrow in chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803 strain). *Avian Path* 1989 ; 18 : 329~343.
 19. Taniguchi T, Yuasa N, Maeda M, et al. Chronological observations on hemato-pathological changes inoculated with chicken anemia agent. *Natl Inst Anim Health Q(Jpn)* 1983 ; 23 : 1~12.
 20. Goryo M, Shibata Y, Suwa T, et al. Outbreak of associated with chicken anemia agent in young chicks. *Jpn J Vet Sci* 1987 ; 49(5) : 867~873.
 21. Jorgensen PH. A micro-scale serum neutralisation test for the detection and titration of antibodies to chicken anaemia agent-prevalence of antibodies in Danish chickens. *Avian Path* 1990 ; 19 : 583~593.
 22. Lucio B, Schat KA, Shivaprasad HL. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease, and serological survey in the United States. *Avian Dis* 1990 ; 34 : 146~153.
 23. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F. A survey of specific pathogen-free chicken flocks for antibodies to chicken anaemia agent, avian nephritis virus and group A rotavirus. *Avian Path* 1989 ; 18 : 215~220.
 24. Yuasa N, Imai K, Tezuka H. Survey of antibody against chicken anaemia agent(CAA) by an indirect immunofluorescent antibody technique in breeder flocks in Japan. *Avian Path* 1985 ; 14 : 521~530.
 25. 성환우, 김선중. 자연감염된 닭으로부터 chicken anemia agent(virus)의 분리. 대한수의학회지 1991 ; 31(4) : 471~477.
 26. Imai K, Yuasa N. Development of a microtest method for serological virological examination of chicken anemia agent. *Jpn J Vet Sci* 1990 ; 52(4) : 873~875.
 27. Otaki Y, Kazuko S, Tajima M, et al. Detection of antibody to chicken anaemia agent : A comparison of three serological tests. *Avian Path* 1991 ; 20 : 315~324.
 28. Yuasa N, Taniguchi T, Imada T, et al. Distribution of chicken anemia agent(CAA) and detection of neutralizing antibody in chicks experimentally inoculated with CAA. *Natl Inst Anim Health Q(Jpn)* 1983 ; 23 : 78~81.
 29. Todd D, Mackie DP, Mawhinney KA, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum antibody to chicken anemia agent. *Avian Dis* 1990 ; 34 : 359~363.

30. 김선중. 국내분리 Chicken anemia agent의 닭에 대한 병원성과 야외계군의 항체보유상황. 가금학회지 1991 ; 18(3) : 141~150.
 31. Yuasa N, Noguchi T, Furuta K, et al. Maternal antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Dis* 1980 ; 24 : 197 ~ 201.
 32. Yuasa N. Propagation and infectivity titration of the Gifu-1 strain of chicken anemia agent in a cell line (MDCC-MSB1) derived from Marek's disease lymphoma. *Natl Inst Anim Health Q (Jpn)* 1983 ; 23 : 13 ~20.
 33. Otaki Y, Nunoya T, Tajima M, et al. Enhanced pathogenicity of chicken anemia agent by infectious bursal disease virus relating to the occurrence of Marek's disease vaccination breaks. *Jpn J Vet Sci* 1989 ; 51(4) : 849~852.
 34. Engstrom BE, Fossum O, Luthman M. Blue wing disease of chicken : experimental infection with a Swedish isolate of chicken anaemia agent and an avian reovirus. *Avian Path* 1988 ; 17 : 33~50.
 35. Otaki Y, Tajima M, Saito K, et al. Immune response of chicks inoculated with chicken anemia agent alone or in combination with Marek's disease virus of turkey herpesvirus. *Jpn J Vet Sci* 1988 ; 50(5) : 1040~1047.
-