

Tek Doz Aşı Uygulaması Yapılmış Hindilerde Newcastle Hastalığı Virusu Antikorlarının Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) Testi ile Saptanması

Ziya İLHAN

Timur GÜLHAN

Abdülbaki AKSAKAL

İsmail Hakkı EKİN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 65080 Kampüs / VAN

ÖZET

Bu çalışmada, içme suyu yoluyla 30. günde bir kez canlı La Sota aşısı uygulanmış et tipi hindi üretimi yapılan bir işletmede, dişi ve erkek hayvanların kesim dönemindeki Newcastle hastalığı virusu antikorlarının hemaglutinasyon inhibisyon (HI) testi ile belirlenmesi amaçlandı. HI testi U tabanlı mikropleytlerde, reagentlar 50 µl, antijen ise 8 hemaglutinasyon ünitesinde (8 HAÜ) kullanılarak yapıldı. Çalışmada biri dişi, ikisi de erkek hindi kümeslerinden olmak üzere toplam 960 serum örneği, dişilerden 105., erkeklerden ise 120. günde alınarak test edildi. Birinci kümeden (erkek) 271, 2. kümeden (dişi) 320, 3. kümeden de (erkek) 369 serum örneği incelendi. HI testi ile 1. kümeden 140 (% 51.6), 2. kümeden 304 (% 94.8), 3. kümeden ise 189 (% 51.2) hayvan pozitif olarak değerlendirildi. Sürü ortalama antikor titreleri 1. kümede 6.3, 2. kümede 9.7, 3. kümede 5.9 olarak belirlendi. HI testinde 7 (log₂) değerinin altında ve üstünde antikor titresine sahip olan hayvanlar arasındaki fark, 1. ile 3. kümes arasında önemli bulunmazken (P>0.05), 2. küme ile 1. küme (P<0.001) ve 2. küme ile 3. küme (P<0.001) arasında önemli bulundu. Sonuç olarak, dişi hindilerin kesim dönemindeki (yaklaşık 11. hafta) antikor titresinin 7 (log₂) HI titresinden yüksek olduğu, erkek hindilerin ise (yaklaşık 13. hafta) bu değerden düşük antikor titrelerine sahip oldukları görüldü. Bu nedenle, Newcastle hastalığının epidemik olarak seyrettiği riskli bölgelerde, 120. günden daha sonra kesime sevkedilen hayvanlara ikinci bir aşı uygulamanın enfeksiyondan korunmada yararlı olacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Newcastle hastalığı, Hindi, Aşı, Hemaglutinasyon inhibisyon (HI) testi.

Detection of Antibodies Against Newcastle Disease Virus Vaccinated with A Single Dose in Turkeys by Hemagglutination Inhibition (HI) Test

SUMMARY

The aim of this study was to determine serum antibody levels against Newcastle disease virus vaccinated at 30 day of age by drinking water with a single dose of chicken live La Sota strain Newcastle disease vaccine in slaughter time in male and female meat turkey flocks by hemagglutination inhibition (HI) test. HI test were performed on U shaped microtiter plates using a total volume of 50 µl test reagent and 8 hemagglutination units (HAU) of antigen. For this purpose a total of 960 blood sera were collected from three field meat turkey flocks. Sera samples were obtained from one female flock slaughtered in day 105 and two male flocks slaughtered in day 120. 271 samples from the 1st flock (male), 320 from the 2nd flock (female) and 396 from the 3rd flock (male) were taken for the test. According to this evaluation 140 (51.6 %), 304 (94.8 %) and 189 (51.2 %) sera found to be positive and the HI antibody titers of flocks were 6.3, 9.7 and 5.9 by HI test; 1st, 2nd and 3rd flock, respectively. The chi-square test was used for the statistical analyses of HI test results. When the results of the tested sera were compared the difference on the base of 7 (log₂) HI titer, between 1st and 3rd of flocks were found to be statistically insignificant (P>0.05), whereas highly significant differences (P<0.001) were found between 2nd flock and both 1st and 3rd flock. This serological investigation showed that antibody titer of female meat turkey flock were over 7 (log₂) HI titer, whereas male meat turkey flocks antibody titers were below this titer. The results of the present study indicate that only once vaccinated male turkeys were susceptible to Newcastle disease at 13 weeks after vaccination. Therefore, alterations in the ongoing vaccine strategies are to be made. In conclusion, the meat turkeys produced more than 120 days in the epidemic area of Newcastle disease may require the boosting vaccination for the adequate protection from the infection.

Key Words: Newcastle disease, Turkey, Vaccine, Hemagglutination inhibition (HI) test.

GİRİŞ

Newcastle hastalığı (yalancı veba), kanatlıların çok bulaşıcı ve öldürücü bir enfeksiyonu olup, Paramyxovirus tarafından oluşturulmaktadır. Kanatlı orijinli Paramyxoviruslar 9 serotipe ayrılmakta, Newcastle hastalığı ise Avian Paramyxovirus tip-1 (PMV-1) tarafından oluşturulmaktadır (2,3,6,9,21). Enfeksiyon solunum, sindirim ve sinir sistemlerinde bozukluklarla karakterizedir. Newcastle virusu, enfeksiyonda oluşan klinik bulgulara göre 5 patotipe ayrılmaktadır. Bunlar, yüksek oranda ölüm ve barsak lezyonları ile karakterize visserotropik velojenik, yüksek mortalite ve merkezi sinir sistemi bozuklukları oluşturan neurotropik velojenik, düşük oranda ölüm ile solunum ve sinir sistemi bozuklukları yapan mezojenik, hafif yada klinik olarak belirsiz solunum sistemi bozuklukları oluşturan lentojenik suşlar ile hafif barsak enfeksiyonlarına neden olan asemptomatik enterik suşlardır (12). Newcastle hastalığı özellikle tavuklar başta olmak üzere hindi ve diğer kanatlı hayvan yetiştiriciliğinin yapıldığı dünyanın belirli bölgelerinde ortaya çıkmakta ve önemli ekonomik kayıplara

neden olmaktadır (4,12,16). Enfeksiyonun kanatlı sektöründe oluşturduğu ekonomik kayıplar, yem tüketiminde azalma, yumurta veriminde düşme ve yüksek oranda görülen ölümlerden kaynaklanmaktadır (20).

Kanatlıları Newcastle hastalığından korumada çeşitli biyogüvenlik önlemleri ile birlikte, hayvanların doğru zamanda ve uygun bir yolla aşılanmaları oldukça önemlidir. Korumacı düzeyde bir bağışıklığın gelişmesinde, genç hayvanlardaki maternal antikor titresini, immün sistemin gelişimi ve immünsupresyon yapan her hangi bir enfeksiyonun olmaması en önemli faktörler arasındadır (1,13,14). Newcastle hastalığına karşı tavuklarda, canlı lentojenik, canlı mezojenik, inaktif ve bazı ülkelerde uygulanan rekombinant aşılardan oluşan aşılar üzerine değişik aşı çeşitleri kullanılmaktadır (1,2,6,19). Aşılardan hayvanlara içme suyu, sprey, gaga daldırma, aerosol, göze ve buruna damlatma gibi farklı yollarla uygulanmaktadır (1,6,16). Hindilerde ise daha çok, düşük patojeniteye sahip canlı lentojenik aşılardan kullanılmaktadır. Bu aşılardan Hitchner

B₁, La Sota, Clone 30, F ve V₄ aşı suşlarından hazırlanan aşılardan bulunmaktadı. Hindilere söz konusu aşılardan La Sota ve Clone 30 aşı suşları ile hazırlanan aşılardan, diğer lentojenik aşılardan daha fazla uygulandığı görülmektedir (13,16).

Newcastle hastalığının indirekt teşhisinde, aşı günü tayininde ve aşılama sonrası oluşan antikor titresinin belirlenmesinde çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır. Bu testler arasında hemaglutinasyon inhibisyon (HI) (1,2,4,5,7,8), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (7,12,15), dot-blot ELISA (11), enzyme immunoassay (EIA) metodu ile çalışan hızlı teşhis kitleri (20), virus nötralizasyon (VN) (2) ve agar jel presipitasyon (AGP) (15) testleri sayılabilir.

Bu çalışmada, içme suyu yoluyla 30. günde bir kez canlı La Sota aşısı uygulanmış et tipi hindi üretimi yapan bir işletmede, dişi ve erkek hayvanların kesim dönemlerindeki Newcastle virusu antikorlarının HI testi ile belirlenerek, üretim maliyetinin en yüksek değerine ulaşan hayvanların bu kritik dönemdeki antikor titrelerinin, HI testinde koruyucu düzey olarak belirlenen 7 (log₂) HI değerinin üzerinde olup olmadığının belirlenmesi ve böylece bu süreden daha uzun üretim yapacak olan işletmeler için bir veri oluşturulması amaçlandı. Araştırmanın Van'da ve literatür taramasına göre ülkemizdeki et tipi hindilerde ilk kez yapılmış olması, bu hayvanların Newcastle aşı programlarının belirlenmesine yardımcı olabilecektir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Aşı, Aşılama Zamanı ve Uygulama Şekli: Hindilerin lentojenik aşılardan La Sota aşısı (Bayer) ile 30. günde, içme suyu yoluyla aşılandığı tespit edildi. Aşının hayvanlara 2 saat susuz bırakıldıktan sonra, 2-3 saatte bitirebilecekleri kadar hacimde, süt tozu içeren su ile verildiği belirlendi.

Kan Serumları: Dişi (Big-6) ve erkek (Big-6) hindilerin ayrı kümelerde barındırıldığı işletmede, dişiler yaklaşık 105., erkekler ise 120. günde kesilmektedir. Çalışmada biri dişi, ikisi de erkek olmak üzere üç hindi kümesine ait hayvanların kan serumları incelendi. Kesim sırasında 1. kümeden 271 (erkek), 2. kümeden (dişi) 320, 3. kümeden (erkek) ise 369 olmak üzere toplam 960 hayvandan kan örneği alındı. Serumlar çıkarıldıktan sonra ependorf tüplere alınarak, -20°C'de saklandı.

Test Reagentları

Yıkanmış Tavuk Eritrositi: Newcastle hastalığına karşı aşılanmamış ve HI testinde negatif sonuç veren 3 adet tavuğa ait kan örneği yıkanarak, hazırlanan % 1.5'lük eritrosit testte kullanıldı.

Kontrol Serumları: Pozitif ve negatif antiserumlar ile test antijeni, Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü Müdürlüğü'nden sağlandı.

Sulandırma Sıvısı: Bu amaçla izotonik fosfat buffer solusyonu (PBS, pH. 7.2) kullanıldı.

Metot

Hemaglutinasyon (HA) ve Hemaglutinasyon-Inhibisyon (HI) Testleri: Her iki test U tabanlı, 96 çukurlu mikroyelllerde (Greiner), reagentlar 50 µl miktarında kullanılarak, Allan ve Gough (4) ile Arda (5)'nin bildirdiği yöntemle göre yapıldı. HI testinde antijen 8 hemaglutinasyon ünitesinde (8 HAÜ) kullanıldı ve HI titresini log₂ tabanına göre değerlendirildi. Her pleyt için pozitif ve negatif kontrol serumları kullanıldı.

İstatistiksel Analiz: Her üç küme için hindilerde, HI testi ile koruyucu düzey olarak belirlenen 7 (log₂) HI değerinin altında ve üstünde antikor titresine sahip olan hayvanlar arasındaki fark, ki kare testi ile değerlendirildi (22).

BULGULAR

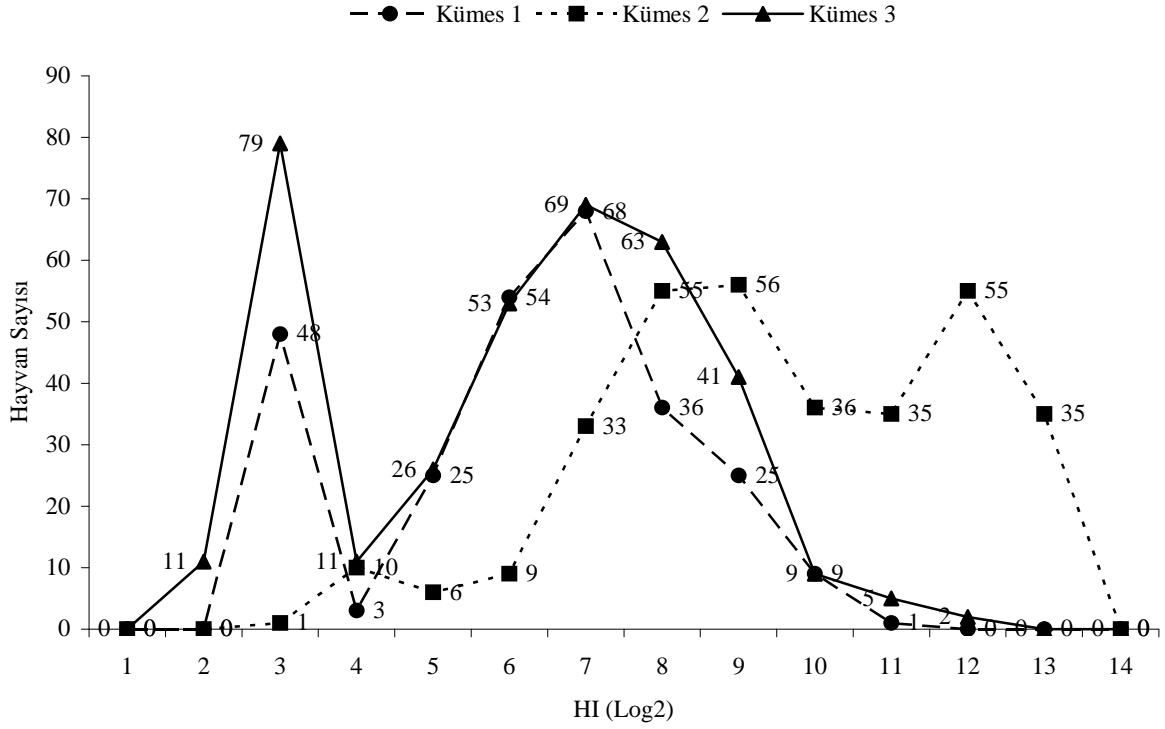
HI Test Sonuçları: Newcastle hastalığına karşı aşılanan kanatlılardaki antikor titresinin HI testi ile saptanmasında, koruyucu düzey olarak belirlenen 7 (log₂) HI değeri dikkate alındığında, toplam 960 serum örneğinden 633 (% 65.9)'ünün 7 (log₂) ve daha yukarı titrede, 323 (% 34.1)'ünün de daha düşük titrede antikorlara sahip olduğu belirlendi. Kümesler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, 1. küme için 271 serumdan 140 (% 51.6)'ı, 2. kümeden alınan 320 örnekten 304 (% 94.8)'i ve 3. küme için 369 hayvandan 189 (% 51.2)'unun söz konusu değerden daha yüksek titrede antikora sahip olduğu belirlendi. Sürü ortalaması antikor titreleri ise 1. küme için 6.3, 2. küme için 9.7, 3. küme için 5.9 olarak saptandı (Tablo 1).

İstatistiksel Bulgular: Kümesler arasında HI testinde, 7 (log₂) ve daha yukarı düzeyde antikor titresini saptanan hindi sayıları dikkate alındığında, 1. ve 3. kümesler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmazken (P>0.05), 2. küme ile 1. küme (P<0.001) ve 2. küme ile 3. küme (P<0.001) arasındaki farklar önemli bulundu (Tablo 1).

Tablo 1: Kümeslere göre kan serumlarının ortalama HI titreleri (log₂) ve istatistiksel bulgular.

Kümesler	Log ₂ 7 ve daha yüksek titrede antikor taşıyan hayvanlar		Log ₂ 7 ve daha düşük titrede antikor taşıyan hayvanlar		İstatistiksel analiz sonuçları	Ortalama sürü HI titresini (log ₂)
	n	%	n	%		
1 (Erkek)	140	51.6	131	48.3	1. ile 2. küme P<0.001 ^a	6.3
2 (Dişi)	304	94.8	16	5.2	1. ile 3. küme P>0.05 ^b	9.7
3 (Erkek)	189	51.2	180	48.7	2. ile 3. küme P<0.001 ^a	5.9
Toplam	633	65.9	327	34.1	-	-

^a: Önemli, ^b: Önemsiz



Şekil 1: Dilusyonlara göre HI titrelerinin (\log_2) karşılaştırmalı sonuçları.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye’de son yıllarda önemli bir gelişme gösteren tavukçuluk sektörü kadar olmasa da, hindi üretimi gelişen, alternatif bir sektör konumuna gelmeye başlamıştır. Ülkemizde hindi üreticiliği daha çok et tipi hindi üretimi şeklinde yapılmaktadır. Yağ ve kolesterol miktarları düşük olan hindi eti, en sağlıklı etler arasında değerlendirilmektedir. Çoğu çevre şartlarına uyabilen hindilerin, gelişimleri de hızlı olmaktadır. Diğer kanatlı sektörlerinde olduğu gibi hindi yetiştiriciliğinde de amaç, kısa sürede en yüksek verimi almaktır.

Et tipi hindi üretimi yapan işletmelerdeki hindi yetiştiriciliği, broiler yetiştiriciliğine göre daha uzun ve farklı süreleri kapsayan dönemlerde yapılmaktadır. Hayvanların ırkı, cinsiyeti ve işletmenin üretim stratejisi, hindi yetiştiriciliğinde besi sürelerinin farklı olmasının en önemli nedenleridir. Bu süre yaklaşık 12-28 hafta arasında değişmektedir (10,17). Bu çalışmada, araştırmanın yapıldığı işletmede dişiler yaklaşık 105., erkekler ise 120. günde kesilmektedir.

Newcastle hastalığı hindilerin önemli infeksiyonlarından biridir (6,7,8,13). Bu infeksiyondan korunmada alınacak çeşitli biyogüvenlik önlemleri ile birlikte, iyi bir aşılama programının uygulanması da gerekmektedir (3, 10). Newcastle hastalığına karşı kanatlılar canlı lentojenik, canlı velojenik, inaktif ve bazı ülkelerde olduğu gibi rekombinant aşılarla; içme suyu, aerosol, göz ve buruna damlatma gibi değişik yollarla aşılanmaktadır (6,13). Bu çalışmada materyallerin sağlandığı işletmede, hayvanlara

canlı La Sota aşısı 30. günde içme suyu yoluyla uygulanmıştır.

Newcastle hastalığı ile ilgili bir çok serolojik test kullanılmaktadır (2,7,11,12). Hastalığın indirekt tanısında, aşı günü tayininde ve aşılamalardan sonra oluşan antikör titresinin saptanmasında HI testi uzun yıllardan beri uygulanmaktadır (1,7,18). Bu test, basit ve kolay uygulanabilmesinin yanında, pahalı araç ve gereçlere ihtiyaç duyulmaması nedeniyle bir çok laboratuvar tarafından tercih edilmektedir (18).

Bazı ülkelerde büyüme dönemindeki hindilerin Newcastle hastalığına karşı aşılama zorunlu tutulmaktadır. Kuzey Almanya’da 16. haftada sadece erkekler olmak üzere, 4, 7. veya 11. haftalarda içme suyu ile iki doz canlı La Sota aşısı uygulanmaktadır (13). Türkiye’de işletmelerin üretim süreleri de dikkate alındığında, bir veya muhtemelen daha fazla aşı uygulamasının yapıldığı düşünülebilir. Bu çalışmada, 30. günde aşılama dışı hindilerin kesim dönemindeki ortalama sürü antikör titresinin, 7 (\log_2) HI değerinin üzerinde olduğu saptandı (Tablo 1). Her iki erkek hindi sürüsünün ise bu değerden daha düşük antikör titrelerine sahip oldukları görüldü (Tablo 1). Bu bulgu, erkek hindilerin dişilere göre yaklaşık 15 gün daha uzun bir süre beslenmeleri ve bu dönemde aşıya karşı oluşan antikörlerin hızlı bir yarılanma ömrüne sahip olmaları ile açıklanabilir. Diğer yandan yeterli bağışıklık için hayvanların %50’sinden fazlasının, 7 (\log_2) HI ve daha yukarı titrede olması gerektiği bildirilmektedir (1). Bu değer dikkate alındığında, dışı hindilerin yeteri düzeyde bağışık oldukları görülmektedir (Şekil 1). Erkek hindi sürülerine ait antikör titrelerinin, her ne

kadar %50'sinden fazlasının 7 (log₂) HI titresinden yüksek olduğu görülse de (Tablo 1), hayvanların çoğunluğunun sadece 7 (log₂) HI titresinde yoğunlaştıkları dikkat çekmektedir (Şekil 1). Bu hayvanların çoğunun antikor titresi, kısa bir süre sonra bu değerden daha aşağı titrelere düşebilecektir.

Kelleher ve ark. (16), et tipi hindi üretimi yapan 4 farklı ticari sürüde, Newcastle hastalığına karşı sprej aşılamanın korumadaki başarısını araştırmışlardır. La Sota aşısının kullanıldığı çalışmada, ilk iki sürü 15-18. günler arasında, üçüncü sürü 21., dördüncü sürü de 14. günde aşılanmıştır. Sonuçlar, HI testi ve farklı günlerde yapılan eprüvasyon çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Aşılamadan 2 hafta sonra hayvanların bağışık hale geldiği, 6 hafta sonra eprüvasyondan klinik olarak etkilenmediği, 10 hafta sonra ise antikor titresinin önemli derecede düştüğü görülmüştür. Araştırmacılar sonuç olarak, et tipi hindilerde Newcastle hastalığına karşı tek doz sprej aşılamanın yeterli düzeyde koruma sağlayamadığını, bu nedenle hayvanlara iki yada daha fazla aşı yapmanın gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada, hindilerde eprüvasyon çalışması yapılmadığından dolayı, aşılamadan sonra saha virusuna karşı aşının koruyuculuğu hakkında herhangi bir yorum yapılamadı.

Sonuç olarak bu çalışma ile, et tipi hindi üretimi yapılan işletmelerde, canlı La Sota aşısının 30. günde içme suyu ile uygulanmasından yaklaşık 11 hafta sonra yapılan incelemede, dişi hindilerdeki antikor titresinin 7 (log₂) HI değerinden yüksek olduğu ve titrenin belli bir süre daha bu seviyesini koruyacağı görüldü. Aynı yöntemle aynı günde aşılanan erkek hindilerin ise kesim dönemine gelmeden önce (yaklaşık 13. hafta), antikor titrelerinin koruyucu düzeyin altına indiği tespit edildi. Bu nedenle, Newcastle hastalığının epidemik olarak seyrettiği riskli bölgelerde, et tipi hindi üretimi yapılan işletmelerde, ikinci bir aşı uygulamanın enfeksiyondan korunmada ve aşı programlarının belirlenmesine yardımcı olabileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

- 1.Akan M, Keskin O, İlhan Z, Dakman A, Kökçü L (1999):** Newcastle hastalığına karşı aşılama denemeleri. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 46, 2-3: 241-248.
- 2.Alexander DJ (1992):** Newcastle Disease. (In) OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. Paris.
- 3.Alexander DJ, (1997):** Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviridae Infections. (In) Diseases of Poultry. Calnek BW, (Ed), p: 541-569, Tenth Ed, Iowa State Univ, Iowa.
- 4.Allan WH and Gough RE (1974):** A standard hemagglutination inhibition test for Newcastle disease (1). A comparison of macro and micro methods. Vet. Rec. 95, 120-123.
- 5.Arda M (1976):** Hollanda'da Newcastle hastalığı üzerinde çalışmalar ve HI testinin yeni yöntemle göre değerlendirilmesi. Vet. Hek. Derg. 46, 19-28.
- 6.Aydın N (2002):** Newcastle Hastalığı. (Alınmıştır) Kanatlı Hayvan Hastalıkları. İzgür M, Akan M, (Ed), s: 135-145, 1. Baskı, Medisan Yayınları, Ankara.

7.Aydın N, Yardımcı H, Gümüşsoy KS, Erdem B (2001): Aşılanmış tavuklarda Newcastle hastalığı virusu antikorlarının HI ve ELISA ile saptanması. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 25, 1-5.

8.Chariton KG (2000): Antibodies to selected disease agents in translocated wild turkeys in California. J. Wildlife Dis. 36, 1: 161-164.

9.Çöven F, Alexander DJ, Mısırlıoğlu ÖZ, Özdemir İ (1999): Güvercinlerde Paromyxovirus-1 enfeksiyonunun araştırılması. Bornova Vet. Kont. Araş. Enst. Derg. 24, 38: 1-10.

10.Evoghlian N (1993): Hindi Yetiştiriciliği. Ankara Üniv. Sağlık Bil. Enst. (Seminer), Ankara.

11.Folitse R, Halvorson DA, Sivanandan V (1998): A dot immunoblotting assay (Dot blot ELISA) for early detection of Newcastle disease antibodies in chickens. Avian Dis. 42, 14-19.

12.Gohm DS, Thür B, Audige L, Hofmann MA (1999): A survey of Newcastle disease in Swiss laying-hen flocks using serological testing and simulation modeling. Prev. Vet. Med. 38, 277-288.

13.Hafez HM (2000): Factors influencing turkey diseases. World Poultry (Special number).

14.Halvorson DA, Shaw D, Sivanandan V, Barbour EK, Mahushkumar S, Newman JA, Newman L (1991): Serological response in broiler chicks to different commercial Newcastle disease and infectious bronchitis vaccines. Avian Dis. 35, 978-981.

15.Ianconescu M, Bankowski RA, McCapes RH, Ghazikhanian GY, Kelly BJ (1984): Paramyxovirus type-3 (PMV-3) in California turkeys: Serologic study of PMV-3 antibody with an enzyme-linked immunosorbent assay. Avian Dis. 29, 2: 363-373.

16.Kelleher CJ, Halvarson DA, Newman JA (1987): An evaluation of Newcastle disease virus spray vaccination programs of market turkeys. Avian Dis. 31, 431-437.

17.Küçükersan S (2001): Hindilerin Beslenmesi. (Alınmıştır) Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Ergün A, Tuncer ŞD (Ed), s: 305-317, Medipres Matbaası, Ankara.

18.Miers LA, Bankowski RA, Zee YC (1983): Optimizing the enzyme-linked immunosorbent assay for evaluating immunity of chickens to Newcastle disease. Avian Dis. 27, 4: 1112-1125.

19.Reddy SK, Sharma JM, Ahmad J, Reddy DN, McMillen JK, Cook SM, Wild MA, Schwartz RD (1996): Protective efficacy of a recombinant herpesvirus of turkeys as an in ovo vaccine against Newcastle and Marek's disease in specific-pathogen-free chickens. Vaccine 14, 6: 469-477.

20.Rivetz B, Weisman Y, Ritterbant M, Fish F, Herzberg M (1985): Evaluation of a novel rapid kit for the visual detection of Newcastle disease virus antibodies. Avian Dis. 29, 4: 929-943.

21.Seal BS, King DJ, Sellers HS (2000): The avian response to Newcastle disease virus. Dev. Comp. Immunol. 24, 257-268.

22.Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V (1997): Biyoistatistik. 7. Baskı, Hatiboğlu Yayınları, Ankara