

Studi Serologi *Newcastle Disease* pada Itik (*Anas javanicus*) yang Dipotong di Pasar Tradisional Surabaya Timur

Serological Study of Newcastle Disease in Ducks (Anas javanicus) Slaughtered in East Surabaya Traditional Market

Sellianova Ardhanella¹, Ratna Damayanti², Suwarno³, Fedik Abdul Rantam³, Kadek Rachmawati², Aswin Rafif Khairullah¹, Jola Rahmahani^{3*}

¹Pendidikan Dokter Hewan, ²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, ³Departemen Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

*Corresponding author: jola_rahmahani@yahoo.co.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui studi serologis *Newcastle Disease* yang menginfeksi itik (*Anas javanicus*) yang dipotong di Pasar Tradisional Surabaya Timur. Penelitian ini dilakukan dari Desember 2018 hingga Januari 2019. Sebanyak 122 sampel diambil dari empat pasar tradisional di Surabaya Timur. Uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) digunakan untuk menentukan hasil positif dengan titer antibodi 4 atau lebih. Sampel untuk uji HI dikumpulkan dari serum itik telah diperlakukan dengan sel darah merah ayam. Hasil penelitian menunjukkan 13 (10,65%) dari 122 sampel positif ND.

Kata kunci: *Haemagglutination Inhibition*, itik, *Newcastle Disease*, studi serologis

Abstract

The purpose of this study was to determine the serological study of *Newcastle Disease* that infects slaughtered ducks (*Anas javanicus*) at the East Surabaya Traditional Market. This study was conducted from December 2018 to January 2019. A total of 122 samples were collected from four traditional markets in East Surabaya. The *Haemagglutination Inhibition* (HI) test was used to determine a positive result with an antibody titer of 4 or more. Samples for the HI test were collected from duck serum that had been treated with chicken red blood cells. The results showed 13 (10.65%) of the 122 samples were positive for ND.

Keywords: *Haemagglutination Inhibition*, duck, *Newcastle Disease*, serological studies

Received: 11 August 2022

Revised: 5 September 2022

Accepted: 8 October 2022

PENDAHULUAN

Newcastle Disease (ND) adalah salah satu penyakit infeksius yang berpotensi penting dalam industri perunggasan (Karamendin dan Kydyrmanov, 2021). *Newcastle Disease* ditemukan pertama kali pada tahun 1926 oleh Kraneveld di Indonesia (Ganar *et al.*, 2014). Pada tahun 1927, Doyle menemukan penyakit yang sama dengan *Newcastle on Tyne*, Inggris, dan dinamakan *Newcastle Disease* (Getabalew *et al.*, 2019). *Newcastle Disease* dilaporkan sebagai penyakit endemis yang terjadi di beberapa negara di dunia (Ganar *et al.*, 2014). Penyakit ini mengakibatkan kerugian yang sangat signifikan bagi industri perunggasan (Rehman *et al.*, 2020).

Kerugian yang ditimbulkan karena wabah virus ND berupa kematian sehingga diperlukan biaya ekstra untuk biosekuriti, pemisahan ternak itik, dan vaksinasi (Dimitrov *et al.*, 2017). Pada negara yang bebas dari ND harus mengeluarkan dana untuk melakukan pengujian berkala dalam mempertahankan status bebas terhadap ND yang diperlukan untuk pendukung izin perdagangan sedangkan pada negara berkembang yang endemik ND, efek yang ditimbulkan berupa kerugian kesehatan, sosial ekonomi masyarakat yang tidak mampu, serta kualitas dan kuantitas telur serta daging yang dikonsumsi menurun akibat ND (Sahoo *et al.*, 2022).

Abraham-Oyiguh (2014) menyatakan kerugian akibat penyakit *Newcastle disease*



disebabkan oleh angka kesakitan (morbiditas) dan angka kematian (mortalitas) pada unggas mencapai 50-100% akibat strain virus ND velogenik, dan 30-50% pada strain mesogenik. Pada strain virus ND lentogenik hanya menimbulkan gejala klinis ringan (Dortmans *et al.*, 2011).

Pasar unggas tradisional memiliki potensi besar dalam penularan penyakit ND (Haile *et al.*, 2020). Penularan penyakit dari unggas yang terinfeksi ke unggas yang sehat disebabkan oleh berbagai spesies unggas yang dipasarkan bersama dalam satu lokasi (Jones *et al.*, 2015). Penularan penyakit ND dapat disebabkan juga oleh sistem pemeliharaan itik yang berbeda-beda yaitu mulai dari sistem pemeliharaan secara intensif atau ekstensif (Brown dan Bevins, 2017).

Menurut Panus *et al.* (2015) itik dapat bertindak sebagai pembawa virus (carrier) atau sumber penyakit yang dapat ditularkan ke unggas lain yang peka untuk mengetahui adanya sirkulasi virus ND pada itik serta sejauh mana itik dapat terserang dan menyebarkan penyakit ND, maka salah satu cara untuk mengetahuinya adalah dengan melakukan deteksi antibodi terhadap virus ND pada itik yang diperdagangkan di Pasar Tradisional Surabaya Timur dengan jumlah yang besar, dan itik yang masuk dalam pasar tersebut berasal dari luar daerah, seperti Madura, Malang, Mojokerto, Sidoarjo, dan Tuban.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Pada penelitian ini, metode sampling yang digunakan ialah *Simple random sampling*. Metode ini termasuk salah satu teknik probability sampling. *Simple random sampling* ialah teknik pengambilan sampel yang dipilih berdasarkan target peneliti yaitu seroprevalensi terhadap virus ND (Elfil & Negida, 2017).

Pembuatan Serum

Perlakuan khusus dilakukan terhadap sampel untuk memisahkan aglutinin non spesifik dari serum. Perlakuan khusus ini dapat dilakukan dengan mencampurkan eritrosit ayam murni (100%) dan serum dengan perbandingan 1:20.

Sebanyak 10 µl eritrosit ayam murni (100%) untuk tiap 200 µl serum dicampur lalu diinkubasi di suhu ruangan selama 30 menit, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifuge ini diambil untuk dilakukan uji HI (Kaufmann *et al.*, 2017). Perlakuan khusus ini hanya dilakukan pada sampel serum yang dapat mengaglutinasi eritrosit.

Uji HI

Uji HI memerlukan suspensi virus ND 4HA sebagai antigen. Titrasi antigen ND dapat dilakukan dengan uji HA untuk menentukan jumlah HA unit. Sebanyak 25 µl NaCl fisiologis diisikan pada semua sumur pada baris A (A1-A12) *microplate* "V". Kemudian pada sumur A1 ditambahkan virus ND sebanyak 25 µl dicampur menggunakan *multichannel micropipet* dan dilakukan titrasi dengan mengambil 25 µl dari sumur pertama diisikan sumur kedua, dari sumur kedua ke sumur ketiga, begitu seterusnya hingga sumur kedua belas, kemudian sisa 25 µl dari sumur kedua belas dibuang, kemudian semua sumur diisi dengan eritrosit ayam 0,5% sebanyak 50 µl kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit kemudian baca titernya. Uji HA ini dilakukan secara duplo pada baris B sedangkan baris C digunakan sebagai kontrol eritrosit yaitu hanya diisi larutan NaCl fisiologis dan eritrosit saja. Hasil HA positif dinyatakan dengan terjadinya aglutinasi eritrosit (*diffuse*). Titer HA virus adalah kebalikan angka hasil pengenceran dimana pada sumur ke-berapa masih tampak adanya hemaglutinasi.

Suspensi virus ND 4 HA digunakan sebagai antigen dalam uji HI. Penghitungan HA unit dilakukan dengan cara menghitung sumur positif. Apabila hemaglutinasi terjadi sampai sumur ke lima, maka HA dinyatakan dengan 25 atau 32 HA unit dan harus diencerkan menjadi 4 HA unit, sehingga antigen harus mengalami pengenceran sebanyak delapan kali. Pengenceran sebanyak delapan kali tersebut dilakukan dengan mengambil 1 bagian antigen 32 HA tersebut kemudian dicampur dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 7 ml. Kemudian dilakukan retitrasi untuk melihat apakah pengerjaan kita

membuat antigen dengan titer 4 HA unit sudah benar.

Pemeriksaan uji ini menggunakan *microplate* “V”. Seluruh sumur A1-H12 pada *microplate* “V” diisi dengan 25 µl NaCl fisiologis, kemudian pada sumur kolom 1 (A1-H1) diisi dengan 25 µl serum sampel, campur lalu dilakukan titrasi dengan mengambil 25 µl dari setiap sumur pada kolom 1 dan dituang ke sumur pada kolom 2, dari kolom 2 ke kolom 3, demikian seterusnya sampai kolom 10, dan 25 µl dari kolom 10 dibuang, kemudian pada semua sumur pada kolom 1-10 (A1-H10) diisi dengan suspensi virus ND 4HA unit sebagai antigen sebanyak 25 µl. Kolom 11 sebagai kontrol eritrosit ditambahkan 25 µl NaCl fisiologis kemudian diisi dengan 50 µl eritrosit ayam 0,5%. Kolom 12 sebagai kontrol serum, setelah diisi dengan 25 µl NaCl fisiologis kemudian diisi dengan 25 µl serum sampel, 50 µl eritrosit ayam 0,5%. Setelah penambahan antigen ND dan serum tercampur, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya semua sumur pada *microplate* diisi dengan eritrosit ayam 0,5% sebanyak 50 µl dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.

Pembacaan hambatan aglutinasi sempurna adalah terjadinya pengendapan eritrosit seperti titik merah yang terlohat sama dengan kontrol pada dasar sumur *microplate*. Pembacaan titer sebaiknya dibandingkan dengan kontrol eritrosit. Saat pembacaan hasil, untuk memudahkannya *microplate* dapat di miringkan 45° sehingga apabila hasil positif maka pengendapan eritrosit akan berbentuk *tear-shape* pada sumur *microplate*. Titer serum adalah kebalikan dari pengenceran tertinggi antiserum yang masih mampu menghambat aglutinasi eritrosit dengan sempurna (Ernawati et al, 2013). Hasil uji HI dinyatakan positif apabila titer antibodi terjadi hambatan aglutinasi pada pengenceran ≥ 4 (\log_2) (Wibawa et al., 2012).

Analisis Data

Data sampel positif yang didapat dan jumlah keseluruhan sampel yang diperoleh disajikan dalam bentuk deskriptif. Persentase hasil uji serologis positif dengan total keseluruhan sampel yang didapat dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$ND = \frac{\text{Jumlah sampel positif ND}}{\text{Jumlah sampel keseluruhan}} \times 100\%$$

(Budiharta dan Suardana, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian serum itik dengan menggunakan uji HI terhadap ND yang diambil di Pasar Tradisional Surabaya Timur seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan uji HI pada sampel serum itik di pasar tradisional Surabaya Timur

Lokasi	Seropositif (%)	Seronegatif (%)
Pacarkeling	9,84 %	16,39 %
Manyar Sabrangan	0,82 %	23,77 %
Pucang Sewu	0 %	24,59 %
Menur Pumpungan	0 %	24,59 %

Hasil pengujian HI pada 122 serum itik yang menunjukkan titer $\geq 4 \log_2$ terdapat 13 sampel positif dari 122 sampel yang mengandung titer antibodi yaitu 1 sampel dengan titer 5 \log_2 dan 12 sampel dengan titer 10 \log_2 artinya bahwa baik titer 5 \log_2 dan titer 10 \log_2 itik memiliki abtibidi terhadap ND dan ini menunjukan bahwa itik pernah terpapar karena tidak pernah dilakukan vaksinasi.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2, itik mempunyai titer antibodi yang tinggi menunjukkan bahwa itik pernah terpapar oleh virus ND. Sebaran titer antibodi positif ND memiliki titer yang berbeda, ada yang memiliki titer antibodi tinggi maupun rendah yang disebabkan oleh strain virus ND. Itik yang terdeteksi memiliki titer antibodi yang sangat tinggi titer antibodi nya 210 dan 25 yaitu berasal dari Kecamatan Mojosari, Kabupaten Mojokerto dimungkinkan paparan virus *Newcastle Disease* pada itik tersebut telah terjadi di peternakan wilayah Kabupaten tersebut.

Tabel 2. Sebaran titer antibodi positif ND pada itik di pasar tradisional Surabaya Timur

Titer antibodi (\log_2)	Σ sampel
5	1
10	12
Total	13



Tindakan vaksinasi masih dipandang sebagai cara efektif untuk menanggulangi penyakit ND dan tindakan *biosecurity* juga penting diterapkan untuk upaya pencegahan penyakit ND. *Biosecurity* merupakan hal yang penting dalam kontrol dan pencegahan penyakit *Newcastle Disease*, selain itu memberikan desinfektan pada kandang dan peralatan secara tepat dan cermat untuk meminimalisir penyebaran penyakit ND (Mccluskey *et al.*, 2006). Lingkungan memberikan sumbangan terhadap imunitas unggas sebesar 70% dan sisanya sebesar 30% adalah genetic, dimana lingkungan tempat bertelur harus mempunyai *biosecurity* yang bagus dan memadai, sedangkan kondisi genetik itik yang bagus menghasilkan sel sel yang memproduksi antibodi yang bagus pula (Padhi, 2016).

Keberadaan antibodi pada itik yang tidak divaksin menunjukkan adanya respon kekebalan terhadap infeksi virus ND, sedangkan terdeteksinya antibodi pada itik yang tidak divaksin dan tidak ditemukannya virus ND menunjukkan infeksi virus ND yang sudah terlewati, dan unggas tersebut mampu bertahan dan sembuh dari infeksi ND (Panus, 2015). Pada itik yang tidak divaksin, tidak ditemukan antibodi karena proses infeksi belum terjadi sehingga antibodi belum dihasilkan (Miller *et al.*, 2013).



Gambar 1. Hasil uji HI terhadap sampel serum itik di Pasar Pacarkeling. (a). K1- K4 hasil uji HI negatif, (b). K5- K16 hasil uji HI positif.

Pada Gambar 1. dapat dibaca hasilnya: (a) Sampel nomor K1 sampai K4 terlihat tidak adanya pengendapan eritrosit atau dapat dikatakan titer pada sampel tersebut adalah 20 dan sumuran 11 (kontrol eritrosit) terlihat pengendapan eritrosit, (b) Sampel nomor K5-K16 terdapat hambatan hemaglutinasi dengan titer antibodi 210 dan sumuran 11 (kontrol eritrosit) terlihat pengendapan eritrosit.

Hasil Uji HI dikatakan negatif bila tidak terjadi hambatan hemaglutinasi, reaksi tersebut disebabkan tidak adanya antibodi pada serum itik seperti pada sampel nomor K1-K4. Hasil Uji HI dikatakan positif bila terjadi hambatan hemaglutinasi yang nampak dengan adanya pengendapan eritrosit pada sumuran plate seperti pada kontrol eritrosit seperti sampel nomor K5-K16 (Kaufmann *et al.*, 2017).

Prinsip uji HI yaitu terjadinya hambatan aglutinasi oleh karena adanya antibodi spesifik pada serum yang mencegah terbentuknya ikatan antara hemaglutinin virus dengan eritrosit unggas (Kaufmann *et al.*, 2017). Hasil uji HI dinyatakan negatif apabila titernya $< 4 \log_2$ (Wibawa *et al.*, 2012). Jumlah sampel negatif yang didapatkan sebanyak 109 sampel. Sampel negatif menunjukkan kemungkinan bahwa itik tidak pernah terpapar virus ND, selain itu juga ada kemungkinan bahwa itik pernah terpapar virus ND dalam jangka waktu yang sudah lama sehingga titer antibodinya turun (Amanu dan Rohi, 2005).

Uji HI dinyatakan positif apabila menunjukkan titer $\geq 4 \log_2$ (Wibawa *et al.*, 2012). Sampel positif menunjukkan kemungkinan itik pernah terpapar oleh virus ND baik dalam jangka waktu yang pendek maupun dalam jangka waktu yang lama. Pada hasil penelitian diperoleh 13 sampel positif dari 122 sampel yang diperiksa dengan persentase 10,65%.

Itik banyak terinfeksi *Newcastle Disease* pada musim pancaroba (pergantian musim dari musim kemarau ke musim penghujan atau sebaliknya). Pengambilan sampel pada waktu ini kemungkinan turut berpengaruh terhadap tingkat seropositif pada unggas. Menurut Adi *et al.* (2009) tentang kejadian ND di Indonesia, puncak kejadian ND tercatat pada bulan November-

Desember (permulaan musim hujan) dengan angka kejadian sebesar 24,2%, sedangkan tercatat paling rendah pada bulan Mei-Juni (pertengahan kemarau) dengan kejadian 10,6%. Pada musim hujan kondisi kesehatan unggas menurun drastis disebabkan mengalami stress akibat suhu lingkungan kurang stabil, sehingga itik relatif kurang tahan terhadap penyakit (Wasti *et al.*, 2020).

Pasar Surabaya Timur kemungkinan dapat terjadi penyebaran virus melalui kontak langsung antar unggas sakit ke unggas sehat melalui feses, sekresi respirasi, maupun dengan unggas yang nampaknya sehat tetapi terinfeksi virus *Newcastle Disease*. Penyebaran virus ND dapat melalui kontak langsung, feses, leleran yang mengandung virus, serta pakan, air dan peralatan kandang yang tercemar feses (Miller *et al.*, 2013).

Keberadaan virus *Newcastle Disease* di lingkungan pasar tradisional dipengaruhi oleh pasokan dari produsen baik dari peternakan besar, kecil, pengepul maupun dari individual atau pekarangan belakang rumah (Haile *et al.*, 2020). Beragamnya aspek yang mempengaruhi mengakibatkan perlu adanya pengawasan dari pihak yang berwenang mengenai kondisi kesehatan itik pada waktu masuk ke dalam pasar dari semua sektor (Babington dan Campbell, 2022). Diperlukan agar dapat meminimalisir masuknya virus *Newcastle Disease* dalam lingkungan pasar (Ganar *et al.*, 2014). Lingkungan asal itik, cuaca ataupun curah hujan juga dapat berpengaruh terhadap penyebaran virus (Curseu *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut, telah ditemukan antibodi ND sebanyak 122 serum itik menunjukkan 13 sampel dinyatakan positif. Sebaran antibodi positif ND pada itik yang dipotong di Pasar Tradisional Surabaya Timur adalah titer 5 dan 10 (\log_2) yaitu sebanyak 10,65% dari total sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada peternakan itik di Jawa Timur dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham-Oyiguh, J., Sulaiman, L. K., Meseko, C. A., Ismail, S., Suleiman, I., Ahmed, S. J., & Onate, E. C. (2014). Prevalence of Newcastle Disease Antibodies in Local Chicken in Federal Capital Territory, Abuja, Nigeria. *International Scholarly Research Notices*, 2014: 796148.
- Adi, A. A. A. M., Astawa, N. M., Putra, K. S. A., Hayashi, Y., & Matsumoto, Y. (2009). Isolation and Characterization of a Pathogenic Newcastle Disease Virus from a Natural Case in Indonesia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72(3), 313–319.
- Amanu, S., & Rohi, O. K. (2005). Studi Serologis Dengan Uji Hambatan Hemaglutinasi Terhadap Angsa Yang Dapat Bertindak Sebagai Pembawa Newcastle Disease di D. I. Yogyakarta. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 1, 8–12.
- Babington, S., & Campbell, D. L. M. (2022). Water for Domestic Ducks: The Benefits and Challenges in Commercial Production. *Frontiers in Animal Science*, 3, 782507.
- Brown, V. R., & Bevins, S. N. (2017). A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. *Veterinary Research*, 48(1), 68.
- Budiharta, S., & Suardana, I. W. (2007). Buku Ajar Epidemiologi dan Ekonomi Veteriner. Penerbit Universitas Udayana. Denpasar, pp: 54–55.
- Curseu, D., Popa, M., Sirbu, D., & Stoian, I. (2010). Potential Impact of Climate Change

- on Pandemic Influenza Risk. *Global Warming*, 30, 643–657.
- Dimitrov, K. M., Afonso, C. L., Yu, Q., & Miller, P. J. (2017). Newcastle disease vaccines-A solved problem or a continuous challenge? *Veterinary Microbiology*, 206, 126–136.
- Dortmans, J. C., Koch, G., Rottier, P. J., & Peeters, B. P. (2011). Virulence of Newcastle disease virus: what is known so far? *Veterinary Research*, 42(1), 122.
- Elfil, M., & Negida, A. (2017). Sampling methods in Clinical Research; an Educational Review. *Emergency (Tehran)*, 5(1), e52.
- Ganar, K., Das, M., Sinha, S., & Kumar, S. (2014). Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Research*, 184, 71–81.
- Getabalew, M., Alemneh, T., Akebereg, D., Getahun, D., & Zewdie, D. (2019). Epidemiology, Diagnosis & Prevention of Newcastle Disease in Poultry. *American Journal of Biomedical Science and Research*, 3(1), 50–59.
- Haile, B., Fentie, T., & Kassa, T. (2020). The role of live chicken markets as a source of replication and dissemination of Newcastle disease virus in chickens, northwest Ethiopia. *Poultry Science*, 99(11), 5415–5421.
- Jones, J. C., Sonnberg, S., Webby, R. J., & Webster, R. G. (2015). Influenza A(H7N9) virus transmission between finches and poultry. *Emerging Infectious Diseases*, 21(4), 619–628.
- Karamendin, K., & Kydyrmanov, A. (2021). Cormorants as a Potentially Important Reservoir and Carrier of Newcastle Disease Virus on the Asian Continent. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 648091.
- Kaufmann, L., Syedbasha, M., Vogt, D., Hollenstein, Y., Hartmann, J., Linnik, J. E., & Egli, A. (2017). An Optimized Hemagglutination Inhibition (HI) Assay to Quantify Influenza-specific Antibody Titers. *Journal of Visualized Experiments*, (130), 55833.
- McCluskey, B. J., Burgess, B., Glover, J., Kinde, H., & Hietala, S. (2006). Use of sentinel chickens to evaluate the effectiveness of cleaning and disinfection procedures in noncommercial poultry operations infected with exotic Newcastle disease virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(3), 296–299.
- Miller, P. J., Afonso, C. L., El Attrache, J., Dorsey, K. M., Courtney, S. C., Guo, Z., & Kapczynski, D. R. (2013). Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses. *Developmental and Comparative Immunology*, 41(4), 505–513.
- Padhi, M. K. (2016). Importance of Indigenous Breeds of Chicken for Rural Economy and Their Improvements for Higher Production Performance. *Scientifica (Cairo)*, 2016, 2604685.
- Panus, A., Setyaningsih, S., & Mayasari, N. L. P. I. (2015). Newcastle Disease Virus Infection Study on Duck and Chicken in Subang District. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 20(2), 134–147.
- Rehman, Z. U., Ren, S., Yang, B., Yang, X., Butt, S. L., Afzal, A., Malik, M. I., Sun, Y., Yu, S., Meng, C., & Ding, C. (2020). Newcastle disease virus induces testicular damage and disrupts steroidogenesis in specific pathogen free roosters. *Veterinary Research*, 51(1), 84.
- Sahoo, N., Bhuyan, K., Panda, B., Behura, N. C., Biswal, S., Samal, L., Chaudhary, D.,

- Bansal, N., Singh, R., Joshi, V. G., Jindal, N., Mahajan, N. K., Maan, S., Ravishankar, C., Rajasekhar, R., Radzio-Basu, J., Herzog, C. M., Kapur, V., Mor, S. K., & Goyal, S. M. (2022). Prevalence of Newcastle disease and associated risk factors in domestic chickens in the Indian state of Odisha. *PLoS One*, 17(2), e0264028.
- Wasti, S., Sah, N., & Mishra, B. (2020). Impact of Heat Stress on Poultry Health and Performances, and Potential Mitigation Strategies. *Animals*, 10, 1266.
- Wibawa, H., Henning, J., Waluyati, D. E., Usman, T. B., Lowther, S., Bingham, J., Junaidi, A., & Meers, J. (2012). Comparison of serological assays for detecting antibodies in ducks exposed to H5 subtype avian influenza virus. *BMC Veterinary Research*, 8, 117.
