



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

SEROPREVALENCE OF NEWCASTLE VIRUS IN TWO PEKING DUCK FARMS IN ARTEMIS PROVINCE, CUBA

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE NEWCASTLE EN DOS GRANJAS DE PATOS PEKÍN EN LA PROVINCIA ARTEMISA, CUBA

Vladimir Machín-León¹; Manuel Colas-Chavez^{2,5}; Leonel Lazo-Pérez³; Miguel Redondo- González⁴; Yolanda Suarez-Fernández⁵; Rigoberto Fimia-Duarte⁶ & José Iannacone^{7,8}

¹Unidad Empresarial de Base “Miguel Perera”. Empresa Comercializadora Avícola. División Tecnológica Avícola. Grupo empresarial Ganadero. Minagri, Cuba. E-mail: manuelcc@unah.edu.cu, olimpia731026@gmail.com

^{2,5}Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria de La Habana. Cuba.

³Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Cuba. E-mail: lazo@uclv.edu.cu

⁴Laboratorio de Investigaciones Avícolas. Instituto de Investigaciones Avícolas. Cuba.

⁶Facultad de Tecnología de la Salud y Enfermería (FTSE). Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (UCM-VC), Cuba. E-mail: rigobertofd@infomed.sld.cu / rigoberto.fimia66@gmail.com

⁷Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA). Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas (FCNNM). Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú. ⁸Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@gmail.com

*Correspondencia con el autor: manuelcc@unah.edu.cu

ABSTRACT

The objective of the investigation was to determine the historic evolution and the enzootic channels of the Newcastle disease virus (VENC) seroprevalence in two Peking duck farms in the Artemisa province, Cuba. A retrospective observational epidemiological study of virus seroprevalence was carried out, based on the serological diagnosis of a five-year time series. It was determined if the time of year was a risk factor associated with seroprevalence. Enzootic channels of seropositivity and geometric means of the virus were defined. A higher risk of seroprevalence was evident at VENC, with an increase as the years went by. The geometric mean values of the antibody titers against the virus were above the usual behavior or enzootic channel, in alert and epizootic zones in some months of the analyzed time series. The seroprevalence was higher in the A farm, compared to the B farm, which was conditioned by a greater number of sanitary gaps, such as greater proximity to laying hen farms, roads and population settlements, as well as potential contact with migratory birds.

Key words: ducks – serological diagnosis – risk factors – respiratory infection

doi:10.24039/rtb2020182770

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la evolución histórica y los canales enzoóticos de la seroprevalencia del virus de la enfermedad de Newcastle (VENC) en dos granjas de patos Pekín de la provincia Artemisa, Cuba. Se realizó un estudio epidemiológico observacional retrospectivo de la seroprevalencia del virus, basado en el diagnóstico serológico de una serie de tiempo de cinco años. Se determinó si la época del año constituía un factor de riesgo asociado a la seroprevalencia. Fueron definidos los canales enzoóticos de la seropositividad y medias geométricas del virus. Se evidenció mayor riesgo de seroprevalencia al VENC, con incremento a medida que transcurrieron los años. Los valores de las medias geométricas de los títulos de anticuerpos contra el virus estuvieron por encima del comportamiento habitual o canal enzoótico, en zonas de alerta y epizootica en algunos meses de la serie de tiempo analizada. La seroprevalencia resultó superior en la granja A, respecto a la granja B, lo cual estuvo condicionado a mayor cantidad de brechas sanitarias, tales como una mayor cercanía a granjas de gallinas ponedoras, carreteras y asentamientos poblacionales, así como, potencial contacto con aves migratorias.

Palabras clave: anátidas – diagnóstico serológico – factores de riesgo – infección respiratoria

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades infectocontagiosas que afectan a las anátidas, se encuentra la enfermedad de Newcastle (ENC). La enfermedad de Newcastle es una enfermedad viral contagiosa aguda de las aves, y es una de las más importantes enfermedades que causan considerables pérdidas económicas en la industria avícola (Wang *et al.*, 2016; Yune & Abdela, 2017; Owoya *et al.*, 2020a). El virus causante de esta enfermedad se agrupa en la familia Paramyxoviridae, género Avulavirus y especie virus de la enfermedad de Newcastle o Paramyxovirus aviar tipo I (APMV-1) (Mayo, 2002; Abd-El Aziz *et al.*, 2016; Brown & Bevins, 2017; Elbestawy *et al.*, 2019). La enfermedad de Newcastle es una infección altamente contagiosa y con frecuencia severa que existe en todo el mundo y afecta a las aves, incluidas las aves de corral domésticas (OIE, 2020). Esta enfermedad es una infección viral altamente contagiosa de las aves principalmente del pollo ocasionándoles mortalidad hasta del 100% en los rebaños (Wang *et al.*, 2016; Owoya *et al.*, 2020b; Zahid *et al.*, 2020).

La ENC fue observada por primera vez en 1926 en la isla de Java, en Indonesia y posteriormente fue encontrada en varias partes del mundo (Ashraf & Shah, 2014; Umali *et al.*, 2014). En 1927 fue reportada en Newcastle, Inglaterra de donde derivó su nombre (Villegas, 2015). Es endémica en

muchos países de África, Asia y el Medio Oriente y en algunos países de América Central y del Sur (CFSPH, 2016; Abah *et al.*, 2017; Amarasinghe *et al.*, 2019).

En el caso de los patos y gansos se enferman, pero en raras ocasiones presentan una enfermedad grave (De & Espinosa, 2004; Owoya *et al.*, 2020b; Zahid *et al.*, 2020). El virus puede afectar a varias especies de aves, pero los efectos de la enfermedad varían según las diferentes especies infectadas, por ejemplo, los patos, gansos y pollos, son más susceptibles (Caupa & Alexander, 2009; Umali *et al.*, 2014; Owoya *et al.*, 2020b).

Existe un número alto de especies aviares susceptibles al virus de la ENC que incluye las aves silvestres, acuáticas y ornamentales, las cuales contribuyen constantemente a la diseminación viral. La enfermedad se considera de distribución mundial y se reportó infecciones en más de 200 especies (Carrasco *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; OIE, 2018; Elbestawy *et al.*, 2019; Owoya *et al.*, 2020b; Zahid *et al.*, 2020).

La ENC puede provocar desde manifestaciones clínicas inaparentes hasta fulminantes y es reconocida como la principal amenaza para la avicultura internacional y por su gravedad forma parte de la lista A de enfermedades de notificación obligatoria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2018).

La magnitud de este problema a nivel mundial varía debido a la presentación de brotes recurrentes, caracterizados por alta mortalidad y otros donde solo se observan infecciones respiratorias ligeras o en algunos casos no existe evidencias clínicas de enfermedad (Alexander, 2003; Abd El Aziz *et al.*, 2016; Elbestawy *et al.*, 2019).

Villegas (2015) destaca las afectaciones en la salud pública, en el comercio internacional de los animales y sus subproductos. Pelayo (2018) notificó la presentación de otras zoonosis provocadas por cepas de virus velogénicas y viscerotrópicas en el Medio Oriente desde 1966 hasta 1968, en América del Sur y Europa en 1970, en los Estados Unidos de América y Canadá desde 1970 hasta 1971.

En Cuba recomiendan un programa de control y erradicación de la ENC en reproductores semirústicos, camperos, ligeros y gallinas ponedoras con sus reemplazos, que tiene como objetivo realizar vacunación a los 14 días de edad de los pollitos y una revacunación a los 45 días de la primera aplicación por aspersión, excepto para las ponedoras que reciben una tercera dosis a los 95 días (Fernández *et al.*, 2013; Godínez *et al.*, 2013; Pampín *et al.*, 2018). Sin embargo, en el caso de los reproductores reciben una tercera dosis incluida en una vacuna tetravalente (Godínez *et al.*, 2013; Pampín *et al.*, 2018). No obstante, los patos no reciben inmunoprofilaxis dentro del programa de control integrado de bioseguridad y manejo adecuado de los mismos (Redondo *et al.* 2018).

Un elemento importante de la avicultura en Cuba lo constituye la bioseguridad, así como los programas de control contra las enfermedades. Cuba está libre de las principales enfermedades devastadoras debido al sistema de vigilancia coordinado por la dirección de Sanidad Animal, con soporte en múltiples instituciones de investigación con experiencia en el manejo, producción, y conservación de recursos genéticos, lo que constituye un componente importante para obtener una mejora sustancial en la calidad de las granjas y un incremento progresivo de la producción nacional. Además, cuenta con las mejores prácticas en el enfrentamiento a desastres naturales y biológicos, hecho en que se vincula el gobierno y las instituciones oficiales (Ramírez, 2009).

La ENC como otras entidades infecciosas aviares comparten factores de riesgo tales como bajos niveles de bioseguridad, potencial contacto con aves silvestres, alta densidad de aves y la cercanía a cuerpos de agua (Hamilton *et al.*, 2012). Estos factores se encuentran generalmente presentes en los sistemas intensivos de traspatios; debido al rol de los sistemas como centinelas en la introducción de nuevos patógenos al país, resulta fundamental el funcionamiento de los sistemas nacionales de vigilancia epidemiológica a fin de detectar de manera temprana la introducción de enfermedades infecciosas con gran impacto económico y sanitario como lo es la ENC y así evitar su diseminación a otras poblaciones susceptibles (Baumberger *et al.* 2018).

En Cuba existe un sistema de alerta temprana que refleja todos los casos sospechosos, realizándoles sus correspondientes exámenes de laboratorio de conjunto con el personal especializado, de forma periódica y frecuente, así como a las crianzas especializadas y aves centinelas que reciben un tratamiento similar aplicándoles pruebas serológicas mensuales y a más corto plazo cuando se presentan las migraciones, como establece el departamento de sanidad animal (Acosta *et al.* 2018; Redondo *et al.* 2018).

La caracterización del escenario epizootiológico en los territorios constituye la base y punto de partida para poder profundizar en el comportamiento epizootiológico de las enfermedades. Por lo que las estrategias de vigilancia basada en seroprevalencia al virus de la enfermedad de Newcastle, deben combinarse con la vigilancia basada en riesgo, para muestrear las poblaciones que estén bajo mayor presión, ya sea por ausencia de programas de inmunoprofilaxis, mayor rango de densidad en la población de aves susceptibles, cercanía a objetivos de peligro biológico como espejos de agua con asentamiento de aves migratorias portadoras del virus de la ENC, mayor cantidad de brechas sanitarias o vulnerabilidad a la génesis de procesos infecciosos en las instalaciones para la crianza de las aves.

Un criterio epidemiológico fundamental a tener en cuenta, es si las aves están vacunadas o no, para realizar una interpretación correcta, con el fin de corroborar la efectividad de la vacuna mediante la valoración de la inmunidad humoral activa en el

lote de aves inmunizadas artificialmente. No obstante, en Cuba, en el caso particular de las anátidas no reciben vacunaciones. Sin embargo, aunque se persigue la vigilancia seroepidemiológica en esta especie, existen brechas que favorecen la evidencia de reactores positivos contra la ENC.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la evolución histórica y los canales enzoóticos de la seroprevalencia del virus de la enfermedad de Newcastle (VENC) en dos granjas de patos Pekín en un periodo de cinco años.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio epidemiológico observacional retrospectivo durante un periodo de

cinco años (noviembre 2011- octubre 2016) en dos granjas de patos, ubicadas en la provincia Artemisa pertenecientes a la Empresa Productora y Comercializadora Avícola de la División Tecnológica Avícola del Ministerio de la Agricultura (MINAGRI). Se hizo la captación de la información seroepidemiológica de los resultados de la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA) emitidos por la dirección del Laboratorio de Investigaciones y Diagnóstico Aviar (LIDA) y asentados en los registros oficiales de la mencionada empresa.

Estimación del tamaño de la muestra:

El tamaño de la muestra se determinó aplicando la fórmula para poblaciones finitas de acuerdo con la prevalencia esperada (Thrusfield & Christley, 2018).

$$n = \frac{N * Z\alpha * p * q}{d^2 (N-1) + Z\alpha^2 * p * q}$$

$$n = \frac{13\ 900 * 1,96 * 23 * 1 - 0,23}{(0,05)^2 * (13\ 900 - 1) + (1,96)^2 * 23 * 1 - 0,23} = \frac{482\ 491,24}{34,74 + 65,95} = 4\ 791$$

Donde: **n**: tamaño de la muestra, **N**: tamaño de la población, **Z α** : valor correspondiente a la distribución de Gauss = 1.96, **p**: prevalencia esperada del parámetro a evaluar, **q**: 1 – p, **d**= 0.05 error permitido, **d²** precisión absoluta a ambos lados de la proporción.

Todo el muestreo se realizó en el periodo comprendido desde noviembre 2011 – octubre 2016. Se tuvo en cuenta que el tamaño de la población en estudio era de 13 900 patos. La prevalencia esperada era de 23%, basado en estudios previos realizados en patos no vacunados de Cuba (Redondo *et al.*, 2019). El nivel de confianza fue de 95 % por lo que el error absoluto aceptado fue de 5 %. Aunque la n calculada fue de 4 791, se tomaron 1 807 muestras de sueros (13% del total de la población).

Toma de muestras de sangre

La sangre se tomó por punción de la vena marginal del ala, con agujas hipodérmicas de 22GX1-1/4” y en tubos estériles de 15 cm de largo por 2 cm de ancho, sin anticoagulante. Las muestras obtenidas se mantuvieron a una temperatura de 21 °C, tras la formación del coagulo de fibrina se procedió a la extracción del suero sanguíneo por centrifugación de la sangre a 800 g durante 10 min, en una centrifuga marca MedicLife, modelo 800 B, China. El suero se colectó en alícuotas de 2mL y se dividió en dos fracciones de 500 μ L cada una, y se mantuvieron a -20°C hasta su evaluación, según la metodología descrita por la OIE (2018).

Diagnóstico serológico

El estudio serológico para demostrar de manera indirecta la presencia de aves rectoras al virus de

ENC se realizó mediante la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (IHA). Para la determinación de anticuerpos contra el virus de la ENC se utilizaron microplacas de fondo en U y se empleó el método beta. El volumen de trabajo de cada uno de los reactantes fue de 50 μ L. Se realizaron diluciones seriadas logaritmo base dos de los sueros en solución buffer-fosfato (PBS) a pH 7,2-7,4, a las que se les añadió cuatro unidades hemoaglutinantes (4 UHA) del antígeno viral y se incubaron a TA durante 30 min. Seguidamente se adicionó eritrocitos de pollo al 1% y se incubaron a TA durante 30 min. En todas las placas se dejaron pocillos controles de 4 UHA, de glóbulos rojos y de sueros positivos y negativos.

Para la interpretación se tuvo en cuenta la dispersión de los títulos, el porcentaje de reactores positivos y las medias geométricas obtenidas. Los criterios de positividad fueron (más de 90% de

reactores positivos y Medias geométricas superiores a 1:8) según la OIE (2015).

Análisis estadístico

El análisis se realizó a partir de los datos tabulados en Microsoft Excel y el empleo del programa EPIDAT versión 3.1 referidos por Hervada *et al.* (2005):

Se estimó el índice de riesgo relativo o razón de prevalencia (RP) durante la exposición de las aves a ambos periodos climáticos del año (periodo lluvioso y poco lluvioso) a través de la conformación de tablas de contingencia 2x2 y 2xN simple (Thrusfield *et al.*, 2018), mediante un estudio analítico observacional, de tipo cohorte retrospectivo para determinar la prevalencia de seropositivos a la ENC en ambos periodos (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de la tabla de contingencia 2x2 simple.

Clasificación	Afectados	No afectados	Total
Expuestos (PPLL)	a	b	(a + b)
No expuestos (PLL)	c	d	(c + d)
Total	(a + c)	(b + d)	(a + c) + (b + d)

PPLL periodo poco lluviosos, PLL periodo lluvioso.

La prevalencia de aves seropositivas en el periodo poco lluvioso, estuvo dada por la fórmula: $P1 = a / (a + b)$. La prevalencia de aves seropositivas en el periodo lluvioso, estuvo dada por la ecuación: $P2 = c / (c + d)$. Así mismo se determinó la razón de prevalencia (RP) mediante la fórmula: $RP = p1 / p2$.

Se señaló como nivel de referencia (menor cantidad de seropositivos) al nivel 1 (2010-2011). Se consideró la RP de este nivel como 1. Nivel 2 (2011-2012). Nivel 3 (2012-2013). Nivel 4 (2013-2014). Nivel 5 (2014-2015) (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de la tabla de contingencia 2xN simple por periodos en cinco años.

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	Total
Positivos	a	b	c	d	e	a + b + c + d + e
Negativos	f	g	h	i	j	f + g + h + i + j
Total	(a + f)	(b + g)	(c + h)	(d + i)	(e + j)	(a + b + c + d + e + f + g + h + i + j)

Se determinaron los canales endémicos de la ocurrencia de casos seropositivos y de las medias geométricas resultantes de los títulos de anticuerpos contra el virus, en el suero sanguíneo de las aves muestreadas mensualmente, durante el periodo de cinco años. Se empleó el método de la mediana, primer y tercer cuartil, el cual se basa en determinar para cada periodo (meses) una medida de tendencia central y sus valores mínimos y máximos, con la finalidad de definir zonas de seguridad o alerta.

Se halló la mediana, el valor mínimo y máximo de la ocurrencia de aves seropositivas y de las medias geométricas en cada mes del periodo de cinco años de la serie de tiempo analizada, y se construyó los canales con la medida central, el rango inferior y el rango superior, estableciéndose las zonas de éxito (valores iguales o inferiores al límite inferior), zona de seguridad (valores iguales o inferiores a la mediana y superiores al límite inferior), zona de alerta (valores iguales o superiores a la mediana e inferiores al límite superior) y zona epizootica (valores iguales o superiores al límite superior) (Vidal-Cruz & Méndez, 2013).

Se determinó la ocurrencia de aves seropositivas y las medias geométricas mensuales durante el año 2016 y se superpuso los valores de este año, sobre el comportamiento histórico de los canales de comportamiento habitual hallados para el periodo 2010–2015.

Se analizó el componente tendencial de las medias geométricas mensuales obtenidas de las aves seropositivas al virus ENC, mediante la ecuación de la recta de tendencia ajustada por el método mínimo cuadrado con el módulo de regresión.

Para determinar la presencia del componente estacional se realizó una curva de expectativa con las medianas de la ocurrencia mensual de seropositivos y de las medias geométricas. Se realizó comparación de proporciones de la seropositividad al virus de ENC en ambos periodos (PLL y PPLL), con el apoyo del Comprop 1.

Aspectos éticos

La investigación estuvo sujeta a normas éticas que posibilitaron reducir al mínimo el daño posible a los 13 900 animales incluidos en el estudio, así como al personal técnico de las dos granjas objeto del estudio y del Laboratorio de Investigaciones y Diagnóstico Aviar (LIDA), que estuvo involucrado en la toma de muestras de sangre, diagnóstico serológico, para la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA), para de esta forma, generar nuevos conocimientos sin violar los principios éticos establecidos para estos casos. Por otra parte, todos los autores involucrados en la investigación, publicación y difusión de los resultados, somos responsables de la confiabilidad y exactitud de los resultados mostrados (DHAMM, 2013).

RESULTADOS

En el periodo poco lluvioso (PPLL) se muestra un comportamiento ascendente del porcentaje de reactores positivos contra el virus de la enfermedad de Newcastle (Tabla 3), en cuatro periodos consecutivos (2010-2011, 2011-2012, 2012-2013 y 2013-2014) respectivamente y un ligero descenso en el periodo 2014-2015.

Tabla 3. Estudio de riesgo relativo contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC) considerando diferentes niveles de exposición (años) respecto a la seropositividad al virus en el PPLL.

Años	n	+	-	Reactores positivos (%)	RP	(IC 95%)	(X ²)	p
2010-2011	242	54	188	22,31	1	-		
2011-2012	154	76	78	49,35	2,2	1,66 – 2,93		
2012-2013	186	116	70	62,37	2,7	2,15 – 3,62	119,4	0,00
2013-2014	213	149	64	69,95	3,1	2,4 – 4,02		
2014-2015	106	54	52	50,94	2,2	1,6 – 3,08		

RP: razón de prevalencia, IC: intervalo de confianza, X². Ji cuadrado, p: valor de p.

El riesgo relativo o razón de prevalencia de 2,2; 2,7; 3,1 y 2,2 respectivamente, en cada periodo analizado, demuestra que existe un exceso de riesgo con respecto al periodo 2010-2011. Esta asociación entre el factor PPLL y el suceso seropositivo, es estadística ($p \leq 0,05$) y significativa. Los niveles de exposición correspondientes a los periodos enmarcados en los años 2012 al 2014 mostraron un riesgo de infección tres veces superior que la etapa 2010-2011. La prueba de homogeneidad de los diferentes niveles con un Ji-cuadrado elevado (119,4) evidencia que existe un riesgo distinto en los diferentes niveles de exposición, comparados con el nivel de referencia (nivel 1). Esta asociación es significativa (valor de $p < 0,05$). La prueba de tendencia lineal muestra que

existe una relación lineal en la que, a medida que aumentan los años, mayor es el riesgo de resultar seropositivo (Ji-cuadrado 75,04 y $p < 0,00$), lo cual es significativo.

En cuanto a las proporciones de la seropositividad al virus de la enfermedad de Newcastle (ENC) entre los periodos (Tabla 4), se encontró que existen diferencias significativas en los porcentajes de reactores positivos. En el periodo lluvioso (PLL) se muestra un comportamiento ascendente del porcentaje de reactores positivos contra el virus de la ENC, en tres periodos (2010-2011, 2011-2012 y 2013-2014), respectivamente y un ligero descenso en el periodo 2012-2013.

Tabla 4. Estudio de riesgo relativo contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC) considerando diferentes niveles de exposición (años) respecto a la seropositividad al virus en el PLL.

Año	n	Reactores positivos%		(RP)	(IC 95%)	(X^2)	Valor p
		+	-				
2010-2011	172	47	125	27,33	1	-	
2011-2012	86	46	40	53,49	1,9	1,43 - 2,67	
2012-2013	423	186	237	43,97	1,6	1,23 - 2,10	43,25
2013-2014	77	49	28	63,64	2,3	1,73 - 3,13	0,000
2014-2015	148	84	64	56,76	2	1,56 - 2,75	

RP razón de prevalencia, IC intervalo de confianza, X^2 Ji cuadrado, p valor de p.

El riesgo relativo de 1; 1,9; 1,6; 2,3 y 2 respectivamente, en cada periodo analizado demuestra que hay un exceso de riesgo con respecto al periodo 2010-2011. Esta asociación entre el factor PLL y el suceso seropositivo, es estadística ($p \leq 0,05$) y significativa.

Los niveles de exposición correspondientes a los periodos enmarcados en los años 2011 al 2015 mostraron un riesgo de infección dos veces superior que la etapa 2010-2011. La prueba de homogeneidad de los diferentes niveles con un Ji-cuadrado elevado (43, 25) evidencia que existe un riesgo distinto entre los niveles, sobre todo en el 4 y 5. La prueba de tendencia lineal muestra que existe una relación lineal en la que, a medida que aumentan los años, mayor es el riesgo de resultar

seropositivo (Ji-cuadrado 29,64 y $p < 0,00$), lo cual es significativo.

Es importante destacar que a medida que aumentan los años, en ambos periodos estacionales (PPLL y PLL), se evidencia un incremento de la probabilidad o el riesgo de resultar seropositivo contra el virus de la ENC, con énfasis en el PPLL (2010-2011, 2011-2012, 2012-2013 y 2013-2014) y en el PLL (2013-2014 y 2014-2015) donde se observa mayor probabilidad o riesgo, con respecto al periodo 2010-2011 que fue el que se utilizó como referencia por ser el de menor porcentaje de reactores.

El porcentaje de reactores positivos al virus de la ENC durante el año 2016 (Fig. 1) es superior en los

meses de abril, mayo, junio y agosto en la granja B, mientras que en la granja A, tienen este comportamiento para los meses de julio, septiembre, octubre y diciembre. En ningún caso

sobrepasan el 90% de reactores positivos. Este porcentaje de seropositivos se encuentra por debajo de lo referido por la OIE (2018) como positivos a la infección.

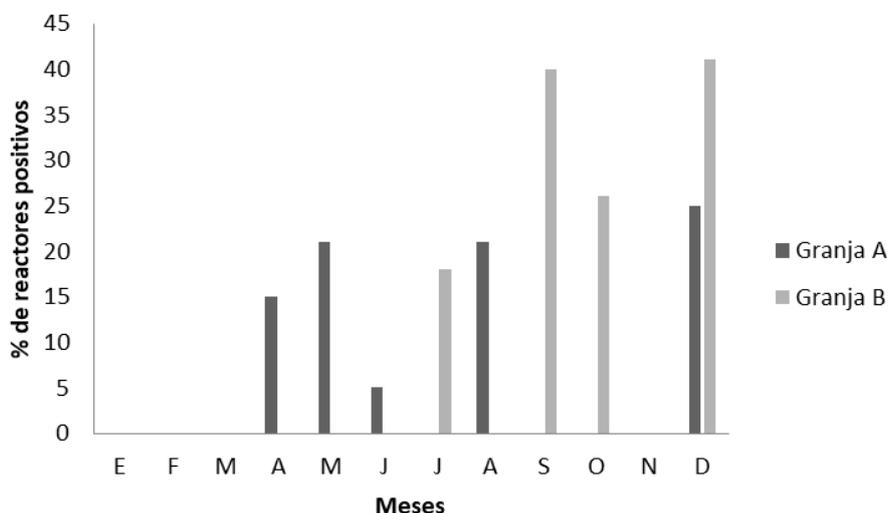


Figura 1. Porcentaje de reactores positivos a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en la granja A y granja B en el año 2016.

Los valores de media geométrica (MG) de anátidas seropositivas en la granja B, son superiores en los meses de febrero, mayo, julio, agosto y diciembre

del 2016, y en la granja A, en abril, junio y noviembre, como muestra la figura 2.

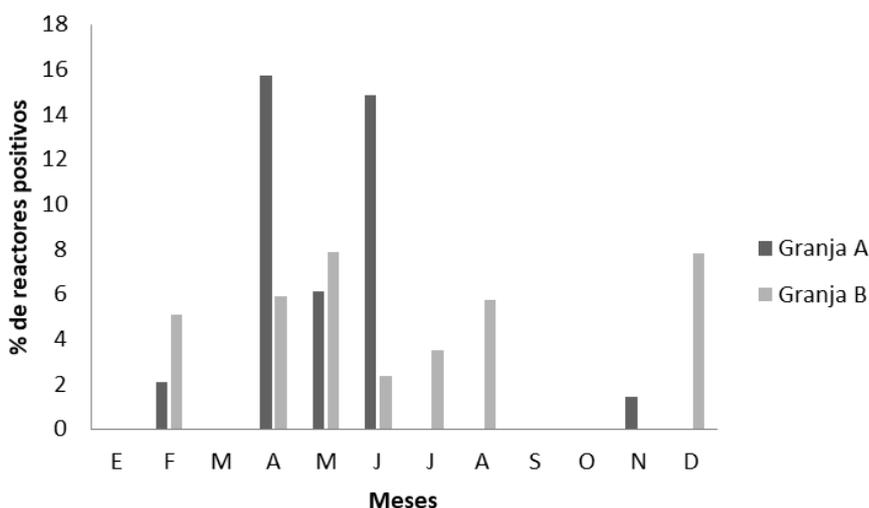


Figura 2. Medias geométricas a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en la granja A y granja B en el año 2016.

Este comportamiento evidencia seroprevalencia positiva al virus de la ENC en los meses de abril y junio en la granja A. Por lo que es necesario confrontar con el diagnóstico anatomopatológico y virológico con la finalidad de demostrar la circulación del virus.

El canal de comportamiento habitual para el porcentaje de reactores positivos a la ENC (Fig. 3) en la población de patos de la granja A, en el año 2016, se comportó desde un 11% a un 44% en los meses de mayo, agosto y diciembre y se mantuvo en zona de éxito prácticamente en todos los

muestreos realizados durante el año en estudio, aunque en el mes de diciembre resultó superior,

pero estuvo en zona de seguridad y en el canal habitual o enzoótico.

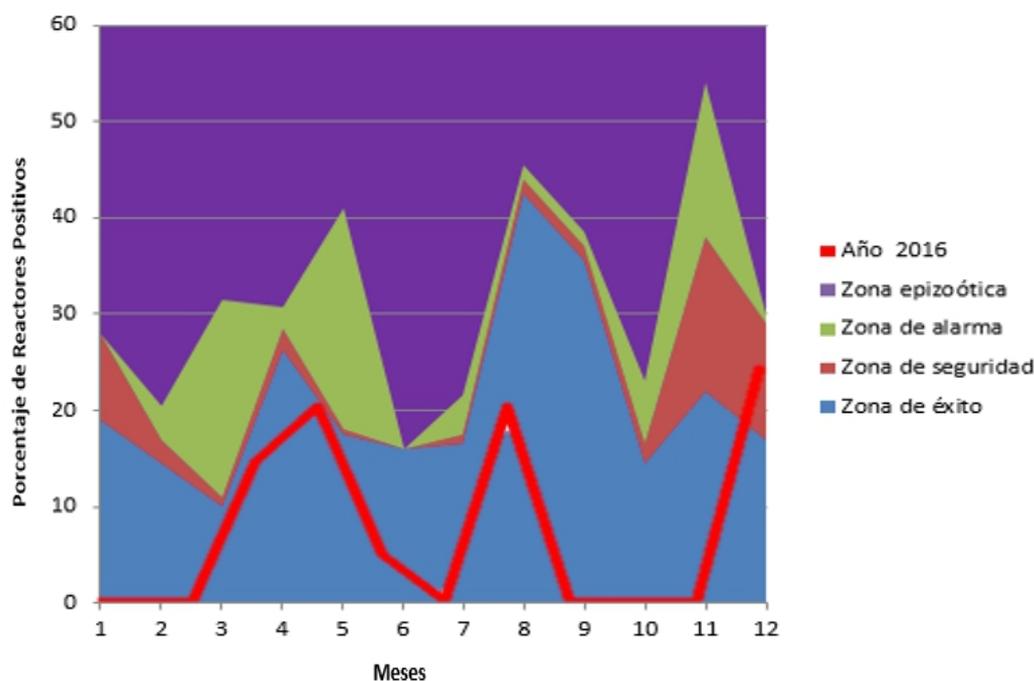


Figura 3. Canales endémicos del porcentaje de reactores positivos a la ENC a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en el periodo 2010-2015 en la granja A.

Se muestra un componente estacional de la serie de tiempo en los meses de enero, abril, agosto y noviembre, donde el porcentaje de reactores positivos alcanzan valores de 28, 28,5, 44 y 38 % respectivamente. Sin embargo, no llegan a un 90 % de seropositivos, que es la proporción de reactores positivos considerado con valor diagnóstico para la seroprevalencia a la ENC en Cuba.

El canal de comportamiento habitual para el porcentaje de reactores positivos a la ENC en la población de anátidas en la granja B (Fig. 4), en el año 2016 es desde un 15 a un 62%, sin tener en cuenta el valor aberrante del mes de diciembre del año 2010 que alcanzó un 89%, lo cual se comporta muy próximo a 90% de reactores positivos que es el límite establecido como punto de corte para la seropositividad a la ENC en Cuba.

En el mes de septiembre en el segundo semestre del

año 2016, el porcentaje de reactores positivos a la ENC estuvo por encima del comportamiento habitual o canal enzoótico, es decir, estuvieron en zona de alarma. Situación que permite inferir que las aves investigadas en este mes, estuvieron más expuestas al virus determinado por el comportamiento histórico en cinco años. Se muestra un componente estacional de la serie de tiempo en los meses de agosto, octubre y diciembre.

El canal de comportamiento habitual para las MG de los títulos de anticuerpos contra la ENC en anátidas de la granja A (Fig. 5), mostraron valores desde 2,4 hasta 27,5 de rango relativamente elevado, que pudo estar dado porque en el mes de abril y mayo del 2014 se obtuvo MG de 46,19 y 98,7 respectivamente, valores superiores a 1:8, considerado el límite máximo de corte establecido para la seropositividad a la ENC en Cuba.

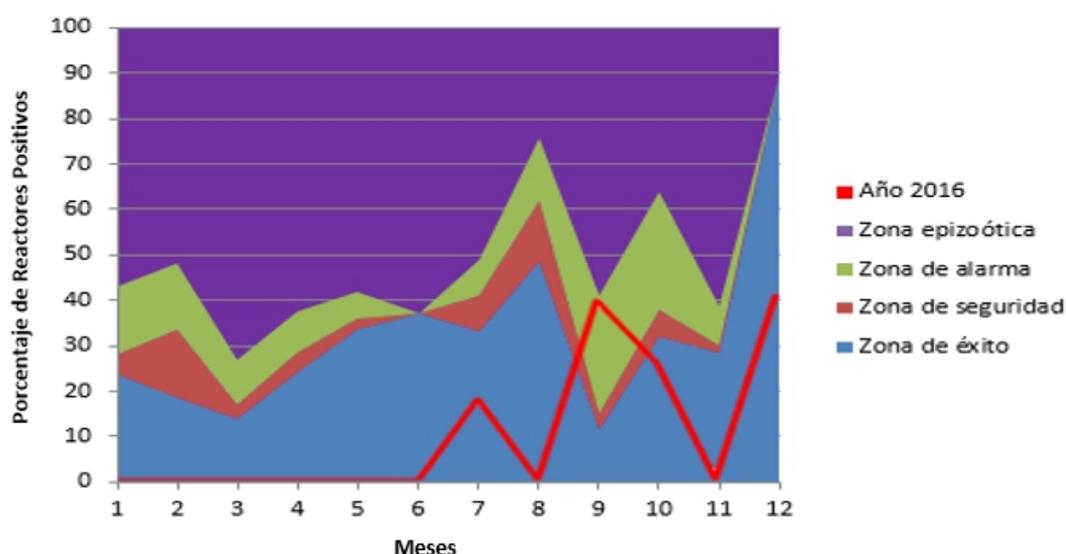


Figura 4. Canales endémicos del porcentaje de reactores positivos a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en el periodo 2010-2015 en la granja B.

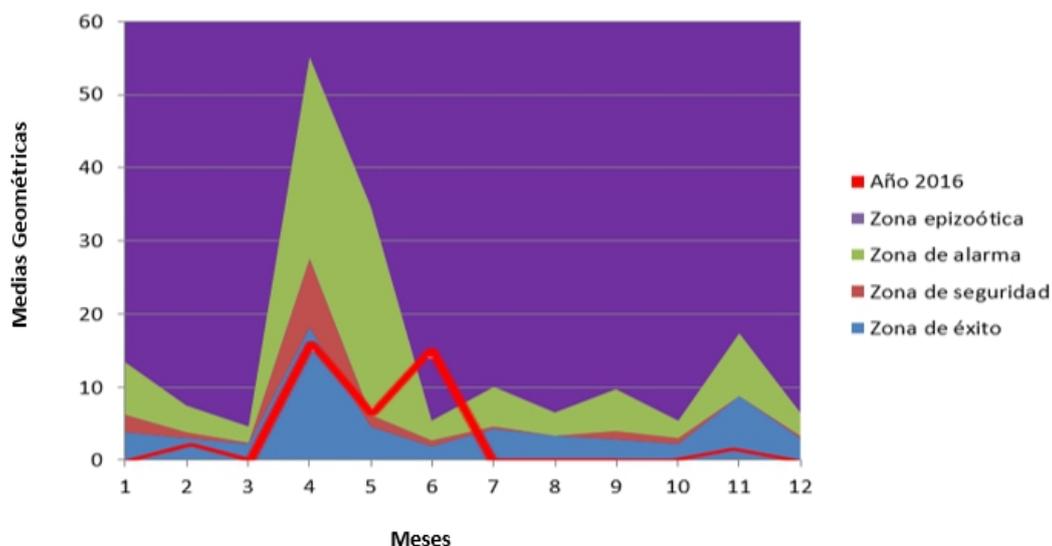


Figura 5. Canales endémicos de las medias geométricas para la seroprevalencia a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en el periodo 2010-2015 en la granja A.

En el muestreo realizado en el año 2016, en los meses de abril y junio se obtuvieron MG de 15,74 y 14,85 respectivamente, situación que revela que en el mes de abril se encontraba cerca del límite inferior del canal enzoótico establecido para cinco años, y en el mes de junio los resultados arrojaron que se encontraban en zona epizootica y además las medias geométricas fueron superiores a 1:8, límite máximo de corte establecido para la seropositividad a la ENC en Cuba.

Este hallazgo nos permite inferir que hubo un aumento de aves seropositivas, lo cual se puede corresponder con el incremento de la circulación

viral y el contacto con las aves susceptibles que no estaban vacunadas. Se muestra un componente estacional de la serie de tiempo en el mes de abril.

El canal de comportamiento habitual para las medias geométricas de la seropositividad de títulos de anticuerpos contra la enfermedad de NC en anátidas de la granja B, en el periodo analizado (Fig. 6) es desde un 1,52 hasta un 13,7. En el muestreo realizado en el año 2016, en el mes de diciembre el valor de la media geométrica (7,79) se comportó por encima del canal enzoótico y de alerta para ese mes, o sea, en zona epizootica.

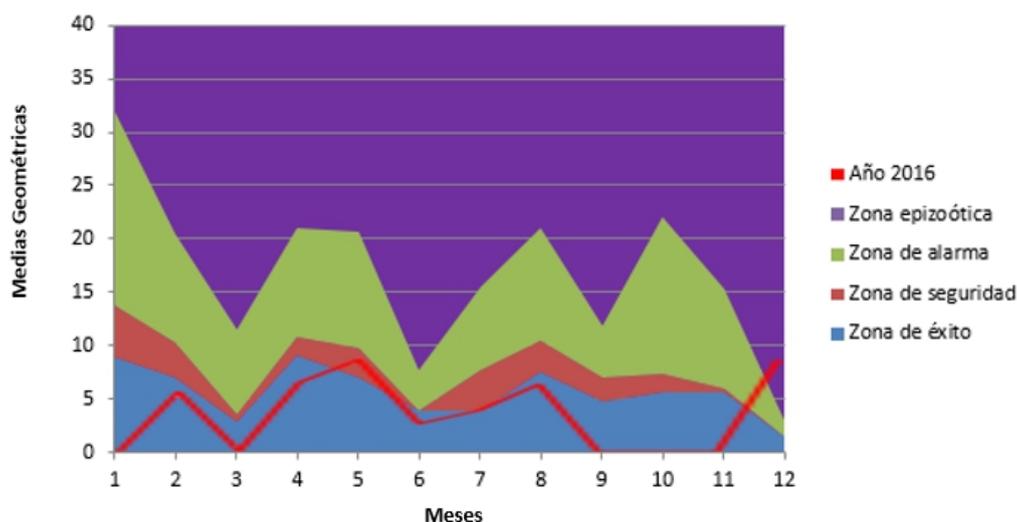


Figura 6. Canales endémicos de las medias geométricas para la seroprevalencia a la Enfermedad de Newcastle (ENC) en el periodo 2010-2015 en la granja B.

Estos resultados son alarmantes ya que, aunque no es evidente un cuadro clínico ni lesional, la seroprevalencia positiva al virus en aves no vacunadas constituye una señal de alarma. Se muestra un componente estacional de la serie de tiempo en los meses de enero, febrero, abril y agosto.

Como se aprecia en la figura 7, las MG tienden a aumentar, sobre todo, a partir del periodo 2012-2013, donde son superiores a 1:8, límite permisible o punto de corte para la interpretación del diagnóstico serológico ante la enfermedad de NC en Cuba. Estos resultados demuestran un aumento en la circulación del virus en los predios analizados.

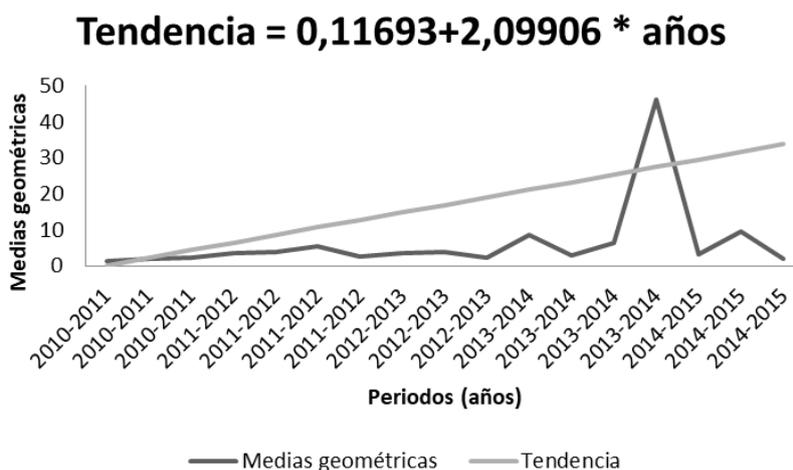


Figura 7. Medias geométricas y tendencia en los muestreos de la Enfermedad de Nxcastle (ENC) realizados en cada periodo.

En los muestreos realizados durante todo el periodo (Tabla 5), los mayores títulos de anticuerpos contra el virus de la ENC estuvieron en el rango de 8-32 lo cual demuestra que la seroprevalencia mostrada por las aves anátidas no

responden a un brote epidémico, donde los títulos debieran ir en incremento en los muestreos pareados y en concomitancia con síntomas y lesiones compatibles con la enfermedad.

Tabla 5. Dispersión de los títulos de anticuerpos contra el virus de la Enfermedad de Newcastle (ENC) en los muestreos realizados.

Años	Dispersión de los títulos de anticuerpos						
	8	16	32	64	128	256	512
2010-2011	27	16	9	1	1	0	0
2011-2012	42	18	9	5	1	0	0
2012-2013	39	31	22	9	9	4	2
2013-2014	34	44	23	21	10	5	1
2014-2015	28	2	3	4	0	0	0
Total	170	111	66	40	21	9	3
Porcentaje	40,47	26,42	15,71	9,52	5	2,1	0,7

Sin embargo, hubo 73 aves que mostraron títulos de anticuerpos por encima de 64 lo cual es un factor a considerar debido a que, en aves no vacunadas con títulos de 64, 128, 256 y 512 se interpreta como una evidente circulación del virus en las zonas de estudio.

DISCUSIÓN

La seroprevalencia al virus en los patos investigados no mostró asociación con la época del año, ni una estacionalidad marcada. Pues el estudio demostró que tanto en el periodo poco lluvioso (PPLL) como en el periodo lluvioso (PLL) hubo un comportamiento ascendente del porcentaje de reactores positivos contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC), aunque este resultado fue ligeramente superior en los meses más calurosos y de mayores precipitaciones en la granja B, resultados que concuerdan con los obtenidos por otros autores al respecto (Abd-El Aziz *et al.*, 2016; Abah *et al.*, 2017; Brow & Bevins, 2017).

La persistencia de este virus en el ambiente es altamente variable, porque puede ser afectada por muchos factores como la temperatura, humedad, suspensión del agente y la exposición a la luz (Yune & Abdela, 2017). En un estudio se reportó la supervivencia del virus hasta siete días en verano, 14 días en primavera y un tiempo más largo de 30 días en invierno (CFSPH, 2016).

Son escasas las publicaciones científicas que abordan la seroprevalencia del VENC en patos, no obstante, estos resultados de seropositividad (Tabla 3, 4 y Figura 7), se corresponden con los obtenidos

por Ravina (2005), que apreció un 43,2% de seropositividad frente al virus de la ENC en una población de 2 775 aves (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) de crianza de traspatio no vacunadas. Los valores son superiores a los obtenidos por Esperón *et al.* (2014), quienes encontraron seropositividad de un 30,4% en muestras de sueros de patos híbridos.

Estos resultados corroboran los criterios de Redondo *et al.* (2017a), quienes señalaron que, en Cuba, desde el año 2013 se estudia el comportamiento de la presencia de títulos de anticuerpos contra ENC que se evidencian en las anátidas asintomáticas detectables pese a los estudios epizootiológicos realizados en las unidades que se investigaron. Además, destacan que la utilización de la serología en la evaluación de programas de vacunación y la vigilancia epizootiológica en zonas de riesgo, lo que permite que Cuba se mantenga con una situación muy estable, sin casos que reportar.

Al respecto, Redondo *et al.* (2018) notificaron en anátidas, niveles de títulos de anticuerpos desde 8 a 256 contra el virus del Newcastle en el 2017; sin embargo, no reportaron lesiones macroscópicas compatibles con la misma.

La seroprevalencia resultó superior en la granja A, respecto a la granja B, lo cual estuvo condicionado a mayor cantidad de brechas sanitarias, tales como una mayor cercanía a granjas de gallinas ponedoras, carreteras y asentamientos poblacionales, así como, potencial contacto con aves migratorias. En este sentido coincidimos con Yune & Abdela (2017) quienes plantearon que las buenas prácticas de bioseguridad pueden proteger

a las aves de la enfermedad de Newcastle. Estos autores consideraron además que las aves sanas no deben contactar con otras aves domésticas de desconocido status de salud, ni con aves ornamentales (particularmente psitácidas) y aves silvestres (particularmente cuervos, gaviotas y palomas) y que las medidas de bioseguridad deben incluir la adecuada ventilación de las naves, buena higiene, minimización de las transportaciones y sobre todo la desinfección de los vehículos que entren a la granja; la separación de las aves enfermas infectadas de las sanas, la desactivación de cadáveres y también el control de plagas tales como, insectos y roedores.

Los resultados de la figura 1 y 2, coinciden con los hallados por Redondo *et al.* (2017a) quienes plantearon que es llamativo que se detecten niveles de anticuerpos contra el virus de Newcastle en especies de aves que no son inmunizadas contra esta enfermedad.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Acosta *et al.* (2018) quienes obtuvieron sueros reactores positivos con títulos iguales o superiores a 1:8, de otras especies de aves, como: anátidas, gallinas de traspatio y aves de los puntos centinelas que se recibieron sistemáticamente de varias provincias en el año 2016.

Los corredores endémicos que muestran las figuras 3, 4, 5 y 6 constituyen un sistema de alerta temprana ante la circulación del VENC en la población de patos estudiada. Uno de los principales objetivos de los sistemas de vigilancia es generar información que permita identificar precozmente cambios en los patrones de la seroprevalencia de importancia para la salud del lote. Para ello un instrumento útil es el denominado "canal enzoótico" o "corredor enzoótico", que es la representación gráfica de la incidencia actual sobre la histórica, la cual alerta ante una incidencia superior a la esperada (Molanes, 2010).

El sistema de vigilancia epidemiológica continúa aplicado, permitió evaluar si la población de aves en estudio, estaban bajo un escenario epidemiológico favorable, medio o crítico, en dependencia de los canales o corredores endémicos. El escenario epidemiológico favorable se correspondió con la zona de éxito, el medio con la zona de seguridad (canal enzoótico) y

el crítico o situación de alerta (zona de alerta y epizootica respectivamente). Además, permitió valorar si las medidas de prevención y control que se aplicaron en el territorio, tuvieron efecto favorable o no, al percatarse si la ocurrencia de reactores positivos y las MG resultantes de los títulos de anticuerpos, se comportaban por debajo o por encima del comportamiento habitual (zona de seguridad). Lo cual ayudó a las autoridades veterinarias a la toma de decisiones en función de extremar las medidas de bioseguridad en los meses que mostraron indicadores superiores al comportamiento habitual.

Los resultados obtenidos, permiten inferir que el establecimiento del canal de comportamiento habitual, para la seroprevalencia ante el virus de la ENC en anátidas, en el territorio y periodo analizado, constituye un sistema de alerta temprana que permite informar a los servicios de la dirección de Sanidad Animal, de una posible eventualidad, en cuanto al surgimiento de brotes de ENC en el territorio (Redondo *et al.*, 2019).

Ante cambios en el patrón de comportamiento habitual de la situación sanitaria, como consecuencia del incremento del número de reactores positivos, se hace necesario poner en práctica un grupo de estrictas medidas de bioseguridad, que están establecidas por el Departamento de Sanidad Animal, además de aplicar las medidas de respuestas para disminuir la vulnerabilidad de las poblaciones de aves en las áreas de riegos. Primeramente, se deben conocer las brechas que facilitan y aumentan la vulnerabilidad ante la génesis de focos de la enfermedad, y a partir de aquí, aplicar las etapas preventiva, preparatoria y de respuesta.

Estos hallazgos, junto a los resultados observados relacionados con el porcentaje de reactores positivos y las medias geométricas en algunos momentos de la serie de tiempo analizada, evidencian el incremento del riesgo y de la circulación del virus en las aves anátidas, las cuales pueden jugar un papel importante en el endemismo de la enfermedad y pudieran incrementar el riesgo si se descuida la bioseguridad y si se dejaron de vacunar a las gallinas en Cuba (Redondo *et al.*, 2019).

La seropositividad al virus en aves anátidas en

Cuba, se puede deber tanto al contacto con cepas velogénicas del virus salvaje, como al contacto con la cepa La sota, que se emplea en vacunas atenuadas en los programas de vacunación en gallinas. Redondo *et al.* (2017b) plantearon que el control de la enfermedad de Newcastle en Cuba se realiza mediante la combinación de medidas de bioseguridad junto con la aplicación de vacunas vivas e inactivadas que mantienen protegidas las gallinas de la aparición de la enfermedad clínica.

No obstante, para concluir categóricamente que existen evidencias de la ENC en la población de aves analizadas se necesitan realizar otros estudios de inmunidad celular, debido a que la seroprevalencia basada en la inmunidad humoral, con la técnica empleada, no permite establecer si el contacto del virus con las aves fue reciente o tardío. Además, es necesario profundizar en el diagnóstico epizootiológico, clínico y anatomopatológico. Por otra parte, se necesitarían pruebas diagnósticas definitivas y complementarias como el aislamiento del virus, el uso de técnicas con mayor especificidad y sensibilidad como ELISA; y técnicas moleculares que permiten la identificación y tipificación molecular del agente etiológico.

En este sentido Bellau-Pujol *et al.* (2005) demostraron que las técnicas moleculares tales como, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y transcripción reverso- reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) han sido usadas para la detección rápida y sensible de la enfermedad de Newcastle.

Se concluye, que el mayor riesgo de seroprevalencia al VENC, con incremento a medida que transcurrieron los años. Los valores de las medias geométricas de los títulos de anticuerpos contra el virus estuvieron por encima del comportamiento habitual o canal enzoótico, en zonas de alerta y epizootica en algunos meses de la serie de tiempo analizada. La seroprevalencia resultó superior en la granja A, respecto a la granja B, lo cual estuvo condicionado a mayor cantidad de brechas sanitarias, tales como una mayor cercanía a granjas de gallinas ponedoras, carreteras y asentamientos poblacionales, así como, potencial contacto con aves migratorias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd-El Aziz, M.; Abd-El-Hamid, H.; Ellkany, S.; Nasef, S.; Nasr, S. & El-Bestawy, A. 2016. Biological and molecular characterization of Newcastle disease virus circulating in chicken flocks, Egypt, during 2014-2015. *Zagazig Veterinary Journal*, 44: 9-20.
- Abah, H.O.; Assam, A. & Abdu, P.A. 2017. Newcastle disease and biosecurity practices in live bird markets in Benue State, Nigeria. *Nigeria Veterinary Journal*, 38: 13-25.
- Acosta, I.; Redondo, M.; Santana, Y.; Sailin, M.; Rosa, A.; Nailin, R.; Alazo, J.; Pérez, I.; Marlen, G. & Sandra, N. 2018. Respuesta serológica al virus de la enfermedad de Newcastle en aves de traspatio y puntos centinelas. *Revista Cubana Ciencia Avícola*, 42: 25-28.
- Alexander, D.J. 2003. *Newcastle disease other avian paramyxoviruses*. In: Saif, Y.M.; Barnes, H.J.; Fadly, A.M.; Glisson, J.R.; McDougald, L.R. & Swayne, D.E. (Eds), *Diseases of poultry* 11th, Ames, IA: Iowa State University Press. pp. 63-99.
- Amarasinghe, G.K.; Bejerman, N. & Kim-Blasdell, B.R. 2019. Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2017. *Archives of Virology*, 162: 2493-2504.
- Ashraf, A. & Shah, M.S. 2014. Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries. *African Journal and Microbiology Research*, 8: 411-416.
- Baumberger, C.; Lazo, A.; Bluhm, P.J.; Di Pillo, F.; Bravo, N. & Hamilton, W.C.H. 2018. Detection of Newcastle disease virus in backyard poultry in Chile. *Revista MVZ Córdoba*, 23 (Supl): 6942-6950.
- Bellau-Pujol, S.; Vabret, A.; Legrand, L.; Dina, J.; Gouarin, S.; Petitjean-Lecherbonnier, J.; Pozzetto, B.; Ginevra, C. & Freymuth, F. 2005. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *Journal of Virological Methods*, 126: 53-63.
- Brown, V.R. & Bevins, S.N. 2017. A review of virulent newcastle disease virus in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. *Veterinary Research*, 48: 62-68.
- Carrasco, A.O.T.; Seki, M.C.; Benevenuto, J.L.;

- Ikeda, P. & Pinto, A.A. 2016. Experimental infection with Brazilian Newcastle disease virus strain in pigeons and chickens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47: 42-231.
- Caupa, I. & Alexander, D.J. 2009. *Avian Influenza and Newcastle Disease. A Field and Laboratory Manual*. Milan: Springer-Verlag.
- CFSPH (Center for Food Security and Public Health). 2016. *Newcastle Disease Avian Paramyxovirus-1 Infection, Goos. Paramyxovirus infection, Ranikhet disease*. IOWA State University College of Veterinary Medicine. Des Moines. United States.
- De, M.D. & Espinosa, C. 2004. *Manual de Procesamiento de la enfermedad de Newcastle*. Buenos Aires. Argentina: SENASA. pp 31.
- Declaración de Helsinki de la AMM (DHAMM). 2013. *Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brazil, octubre. World Medical Association, Inc. – All Rights reserved. pp 9.
- Elbestawy, A.R.; Ellkany, H.F.; Abd-El-Hamid, H.S.; Zedan, R.E.; Gado, A.R.; Sedeik, M.E.; El-Hack, A.M.E.; Saadeldin, I.M.; Alowaimer, A.H.; Ba-Awadh, H.A. & Swelum, A.A. 2019. Muscovy ducks infected with velogenic Newcastle disease virus (genotype VIIId) act as carriers to infect in-contact chickens. *Poultry Science*, 98: 4441-4448.
- Esperón, F.; Vázquez, B.; Sánchez, A.; Fernández, P.J.; Yuste, M.; Neves, E.; Nogal, V. & Muños, M. 2014. Seroprevalence of Paramyxoviruses in synanthropic and semi-free-range birds. *Avian Diseases*, 58: 306-308.
- Fernández, A.; Madrazo, G.; Bermúdez, J. & Pérez, M. 2013. *Ponedoras y sus reemplazos*. En: *Manual tecnológico para la cría de aves*. La Habana, Cuba: Instituto de Investigaciones Avícolas. pp 49-77.
- Godínez, O.; Pérez, M.; Colas, M.; Sardá, R. & Madrazo, F. 2013. *Manual Tecnológico de Crianza de Reproductores ligeros y sus reemplazos*. La Habana, Cuba: IIA MINAGRI. pp 3.
- Hervada, V.X.; Pérez, S.; Isolina, M.; Vázquez, F.E.; Castillo, S.C.; Enrique, L.E.E. & Silva, A.L.C. 2005. EPIDAT. *Programa para análisis epidemiológico de datos tabulados*. Versión 3.1. Xunta de Galicia. Consellería de Sanidade. Dirección Xeral de Saude Pública. OPS. OMS.
- Hamilton, W.C.; Rojas, H.; Pinto, J.; Orozco, J.; Hervé-Claude, L.P. & Urcelay, S. 2012. Characterization of backyard poultry production systems and disease risk in the central zone of Chile. *Research in Veterinary Science*, 93: 121-124.
- Mayo, M.A. 2002. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Archives of Virology*, 147: 1655-1663.
- Molanes, L.E. 2010. *Documento del módulo de vigilancia en salud animal. Análisis epidemiológico de datos tabulados (EPIDAT 3.1)*. Consejería de sanidad de Junta de Galicia. OPS-OMS.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2015. *Newcastle disease*. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 2.3.14. 5th Ed. París. Francia. pp. 727.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2018. *Infección por el virus de la enfermedad de Newcastle*. Recomendaciones aplicadas a las enfermedades la lista de la OIE y a otras enfermedades importantes para el Comercio Internacional. París. Francia. pp 1-12.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2020. *Información sobre las enfermedades de los animales acuáticos y terrestres. Enfermedad de Newcastle*. París. Francia. pp 1. Disponible en: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/enfermedad-de-newcastle/>
- Owoya, A.H.; Shittu, I.; Ayuba, A.P. & Aronu, C.J. 2020a. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Newcastle disease virus isolated from poultry in North Central States of Nigeria. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 12: 20-26.
- Owoya, A.H.; Friday, O.P. & Ishaya, V. 2020b. Survey for Newcastle Disease Virus Antibodies in Local Chickens, Ducks and Pigeons in Mukurdi, Nigeria. *Animal and Veterinary Sciences*, 8: 55-59.
- Pampín, M.; Madrazo, G.; Fumero, J.E. & Edghill,

- E. 2018. *Avicultura sostenible*. En: Funes, F. & Vázquez, L.L. *Avances de la agroecología en Cuba*. Primera edición ed. La Habana.
- Pelayo, S. 2018. *Zoantropozoonosis*. La Habana, Cuba EciMed. Ciencias Médicas.
- Ramírez, A. 2009. *Panorámica de la avicultura cubana*. Revista Avicola Prof, 27: 6-8.
- Ravina, N. 2005. *Monitoreo Serológico de la Enfermedad de Newcastle efectuado en aves domésticas (Gallus gallus) en Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna, Junín. Huancavelica, Ayacucho, Cuzco, Apurímac, Puno-2001*. Tesis de grado. Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional. Mayor de San Marcos, pp. 13.
- Redondo, M.; Isis, A.; Rizzo, J.L.; Correa, A.; Masdeu, V.; Moraima, A.; Yilian, L.; Bocourt, L.; Mojena, K. & Cala, V. 2017a. Evaluación anatomopatológicas y bacteriológicas en anátidas comerciales rectoras positivas serológicamente al Newcastle. Año 2016. Revista Cubana de Ciencia Avícola. 41: 37-41.
- Redondo, M.; Acosta, I.; Santana, Y.; Despaigne, O.; León, S.; Fernández, A.; Matos, S.; Aguilar, R.; Rodríguez, N.; Alazo, J.; Pérez, L.; Naranjo, S.; García, M. & Milanés, P. 2017b. Significación de la respuesta serológica de Newcastle en anátidas comerciales II Seguimiento años 2015-2016. Revista Cubana de Ciencia Avícola. 42: 69-76.
- Redondo, M.; Acosta, I.; Santana, Y.; Fernández, A.; Matos, S.; Aguilar, R.; Rodríguez, N.J.; Alazo, L.; Pérez, L.; Naranjo, S. & García, M. 2018. Monitoreo serológico de anticuerpos de Newcastle por HI en diferentes especies de aves durante el año 2016. Revista Cubana de Ciencia Avícola, 42: 13-17.
- Redondo, M.; Acosta-Guevara, I.; Santana, Y.; Aguilar, R.; Rodríguez, N.; Moreno, K. & Colas, C.M. 2019. Seroprevalencia de títulos de anticuerpos de Newcastle en patos no vacunados desde 2015 a 2018 en Cuba. Revista Cubana de Ciencia Avícola. 43: 81-86.
- Thrusfield, M. & Christley, R. 2018. *Veterinary Epidemiology*. Elsevier 4^{ta} edición. Editor Wiley-Blackwell. Londres. pp. 276.
- Umali, D.V.; Ito, H.; Katoh, H. & Ito T. 2014. Surveillance of avian paramyxovirus in migratory waterfowls in the San-in region of western Japan from 2006 to 2012. Journal of Veterinary Medical Science, 76: 423-30.
- Vidal-Cruz, P. & Méndez, V.R. 2013. *Guía para la elaboración de canales endémicos. Asesoría Capacitación e Investigación para la formación y el desarrollo*. Centro de formación de capital humano. Extensión y desarrollo académico. Educación continua. pp 1-6.
- Villegas, P. 2015. *Newcastle Epidemiología y Estrategias de Control*. avi News International The Animal Nutrition Pig Pork News. Nov. pp. 66-82.
- Wang, J.; Lv, Y.; Zhang, Y.; Zheng, D.; Zhao, Y.; Castellán, D.; Liu, H. & Wang, Z. 2016. Genomic Characterizations of a Newcastle Disease Virus Isolated from Ducks in Live Bird Markets in China. PLoS ONE, 11: e0158771.
- Yune, N. & Abdela, N. 2017. Update on Epidemiology, Diagnosis and Control Technique of Newcastle Disease. Journal of Veterinary Science & Technology, 8: 1-6.
- Zahid, B.; Iqbal, Q.J.; Zohaib, A.; Aslam, A.; Akhter, R.; Sadia, Qurat-ul-ain, H., Sultana, R.; Irshad, I. & Alyas, S. 2020. Detection and molecular characterization of virulent Newcastle disease virus in ducks (*Anas platyrhynchos domesticus*). Pakistan Journal Zoology, 52: 1-4.

Received May 17, 2020.
Accepted August 25, 2020.