



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud

OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa

PANAFTOSA - SALUD PÚBLICA VETERINARIA

SEMINARIO INTERNACIONAL PRE-COSALFA 44

Pirenópolis, Goiás - Brasil, 3-4 de abril de 2017

Estudios de Inmunidad para caracterización de Riesgo en Ecuador y Venezuela

Manuel J Sanchez Vazquez MV MSc PhD

Epidemiólogo

PANAFTOSA - OPS/OMS

Contenido

- Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación
- Ejemplo simulado
- Ejemplos de la Región - Metodología
- Ejemplo los Resultados de Venezuela
- Conclusiones y Recomendaciones

Contenido

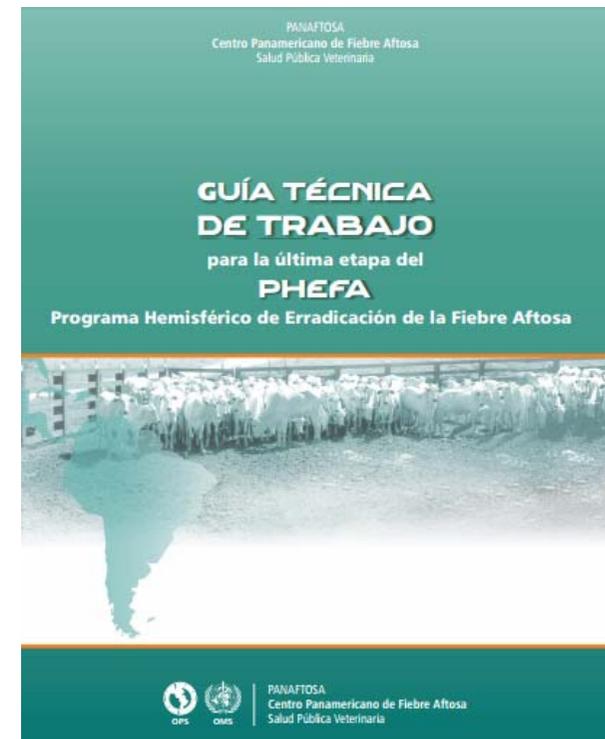
- **Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación**
- Ejemplo simulado
- Ejemplos de la Región - Metodología
- Ejemplo los Resultados de Venezuela
- Conclusiones y Recomendaciones

Investigar los niveles de inmunidad post-vacunación (i)

Según la Guía técnica de trabajo para la última fase del PHEFA elaborada por PANAFTOSA-OPS/OMS:

Se debe investigar la probabilidad de la existencia de los **“nichos endémicos”** en sub-poblaciones con **niveles sub-óptimos de vacunación.**

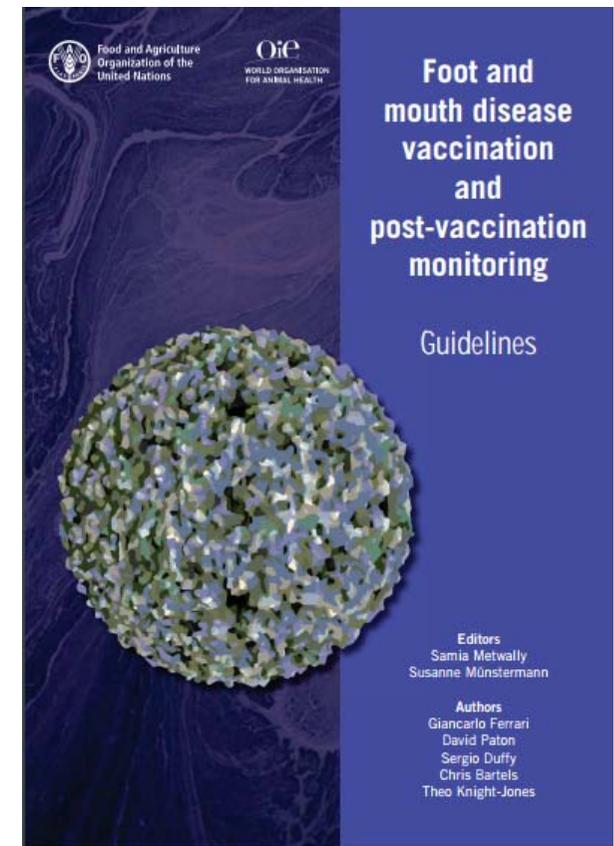
Así, se debe conocer de forma precisa, **el nivel de inmunidad a nivel de rebaño** y poder además identificar **los factores de riesgo** asociados con esa inmunidad.



Investigar los niveles de inmunidad post-vacunación (ii)

También la guía para la vacunación y monitoreo de la post-vacunación de la FAO y OIE:

Invita a investigar los niveles inmunitarios y usar diferentes estrategias en función de la etapa de erradicación, recomendando **la investigación a nivel de predio** (y no animal) **en las últimas etapas de erradicación.**



Investigar los niveles de inmunidad post-vacunación (iii)

- Es importante evaluar la respuesta inmunitaria en los animales vacunados, **pues la cobertura de la vacunación** (animales vacunados) **no implica directamente protección**.
- Hay **varios factores** que pueden influir en el resultado de la vacunación para que la vacuna no llegue a dar una respuesta inmunitaria:
 - Si hay **animales que no se vacunaron** (aunque el predio aparezca registrado como vacunado) pues no estaban presentes en el momento de la vacuna, aquellos más asilvestrados o no hay cooperación por parte de los productores,
 - Problemas de la **potencia de la vacuna**, en la conservación del frío, en la aplicación (derrame de parte de la dosis administrada...)
 - Las **prácticas de algunos brigadistas** pueden afectar a la vacuna y a la vacunación, y van a dar un patrón espacial.

Nivel poblacional versus nivel de predio (I)

- En función del **objetivo del estudio y la situación del país**, se puede optar por estudios poblacionales a **nivel animal** con resultados globales, o por **estudios a nivel de predio**.
- Para seguir las recomendaciones de la **Guía Técnica**, se prefieren los estudios que tienen en cuenta la estructura de **agrupamiento de los predios**,
 - no es sólo importante saber cual es el resultado global de inmunidad del estudio sino tener **una estimación precisa de la prevalencia** dentro de los predios muestreados,
 - pues el resultado de los predios va a **informar también a un estudio de factores de riesgo**,
 - por lo tanto, se requiere **un tamaño de muestra** (en número de predios y de animales) **adecuado** a este objetivo.

Nivel poblacional versus nivel de predio (II)

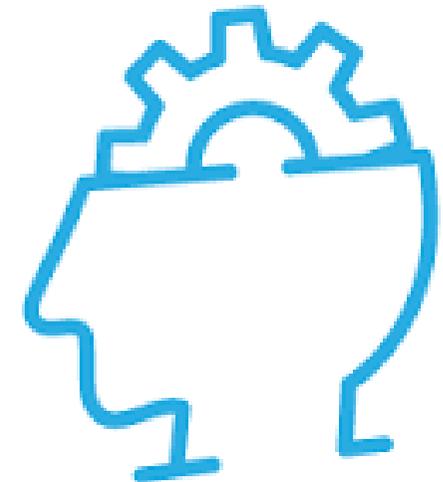
- Estos resultados pueden **informar estudios de circulación viral**, pues cuanto menos inmunidad, más riesgo de presencia del virus
- y si los **bajos niveles inmunitarios están agregados espacialmente, podrían facilitar la instauración de nichos.**
- En general, este tipo de diseño nos permite obtener un **diagnóstico robusto** de nuestra estrategia de vacunación/campaña.
- Si sólo se quiere tener una idea general de la inmunidad a nivel de predio, para identificar presencia de predios con inmunidad sub-óptima, el tamaño del muestreo es más reducido.
 - la guía para la vacunación y monitoreo de la post-vacunación de la FAO y OIE, da cuenta de estos puntos.

Contenido

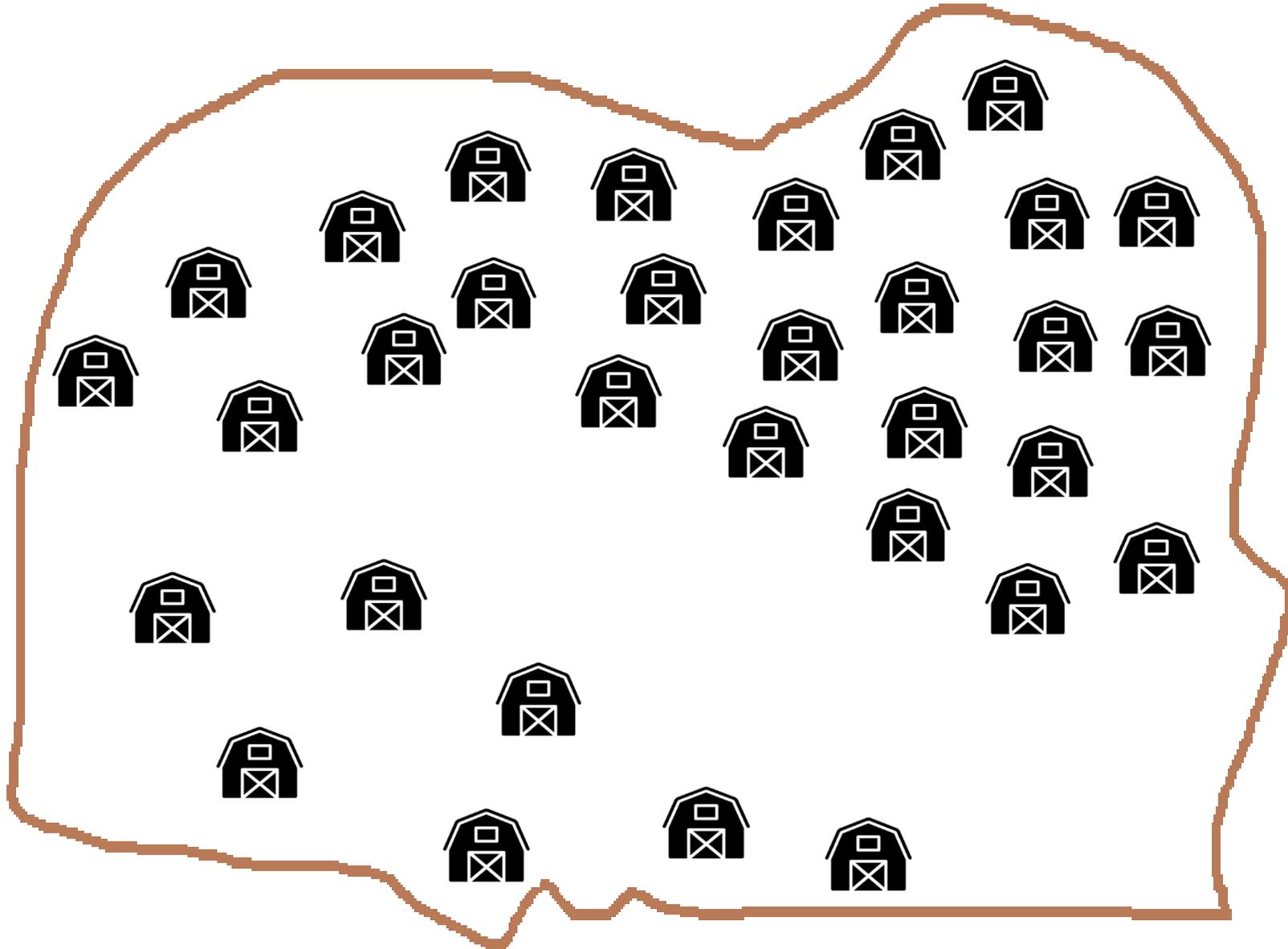
- Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación
- **Ejemplo simulado**
- Ejemplos de la Región - Metodología
- Ejemplo los Resultados de Venezuela
- Conclusiones y Recomendaciones

Ejemplo simulado

- Vamos a suponer un país en el que se desea estimar la prevalencia de inmunidad post-vacunación.
- Suponemos que tenemos 32 predios.
- He simulado **4 escenarios diferentes de inmunidad para estos 32 predios.**
- En **todas las simulaciones los resultados poblacionales dan 80%** de inmunidad a nivel general.

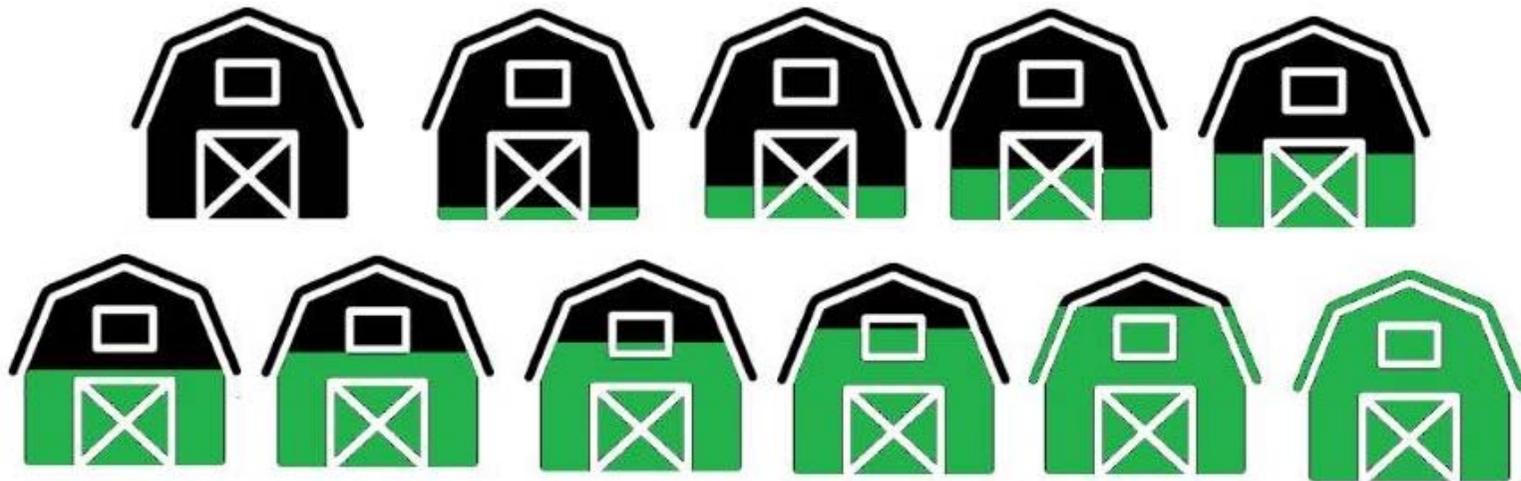


Un país con los 32 predios

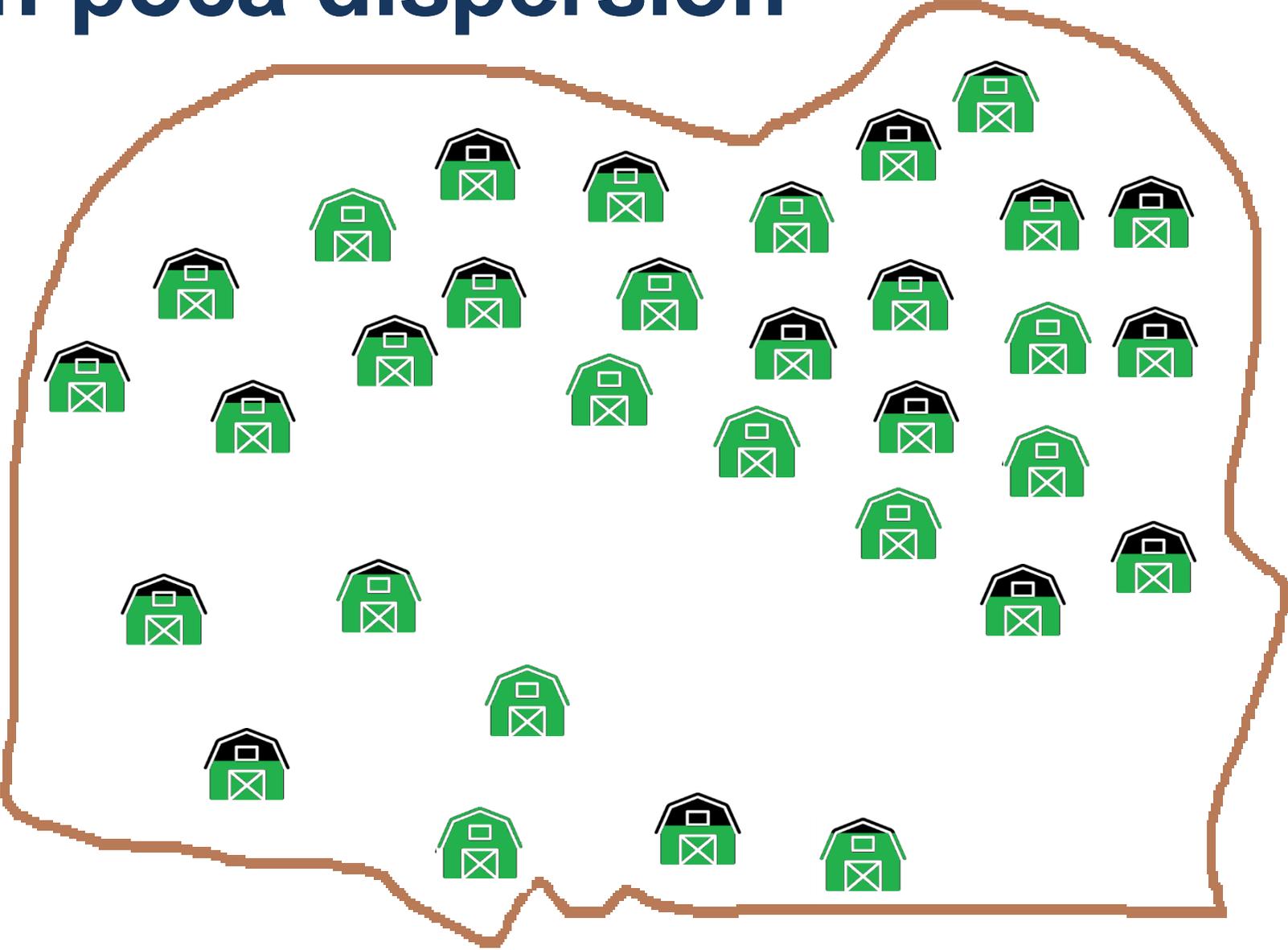


Representación del nivel de inmunidad

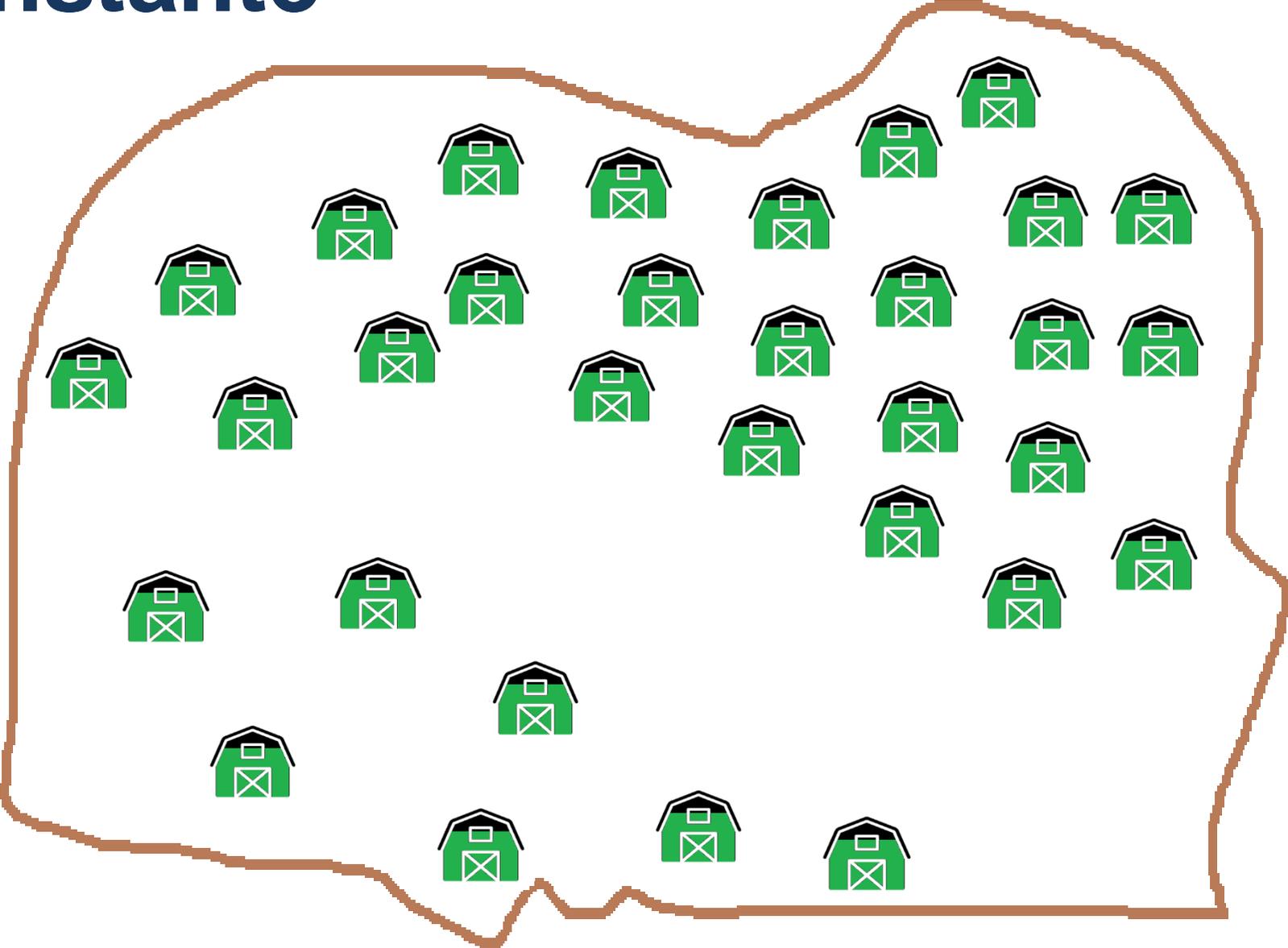
- Ilustramos en este ejemplo el nivel de inmunidad predial, de 0 a 100%, en función de como están de rellenadas de verde los iconos de las granjas



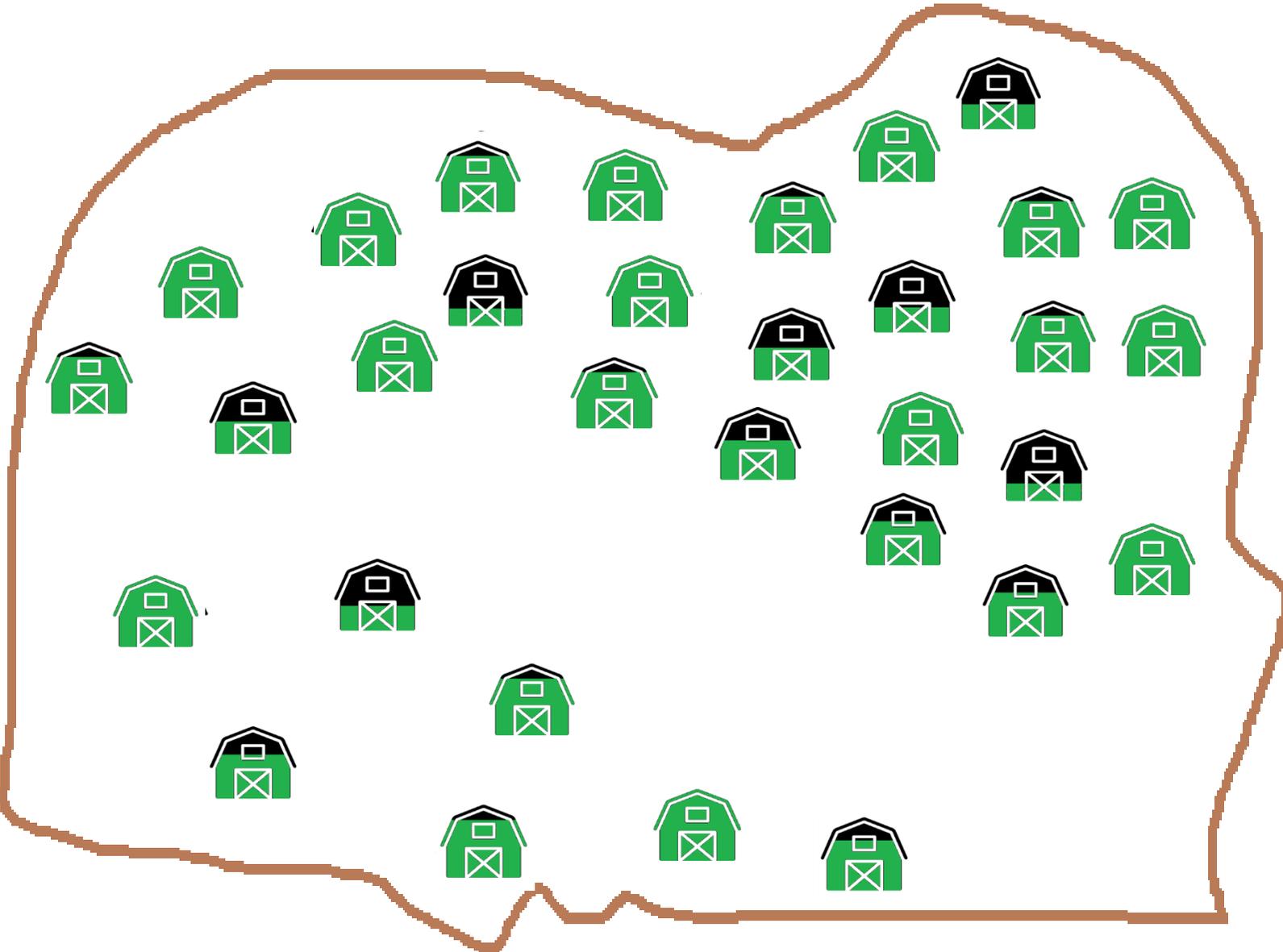
Escenario I: Buena inmunidad con poca dispersión



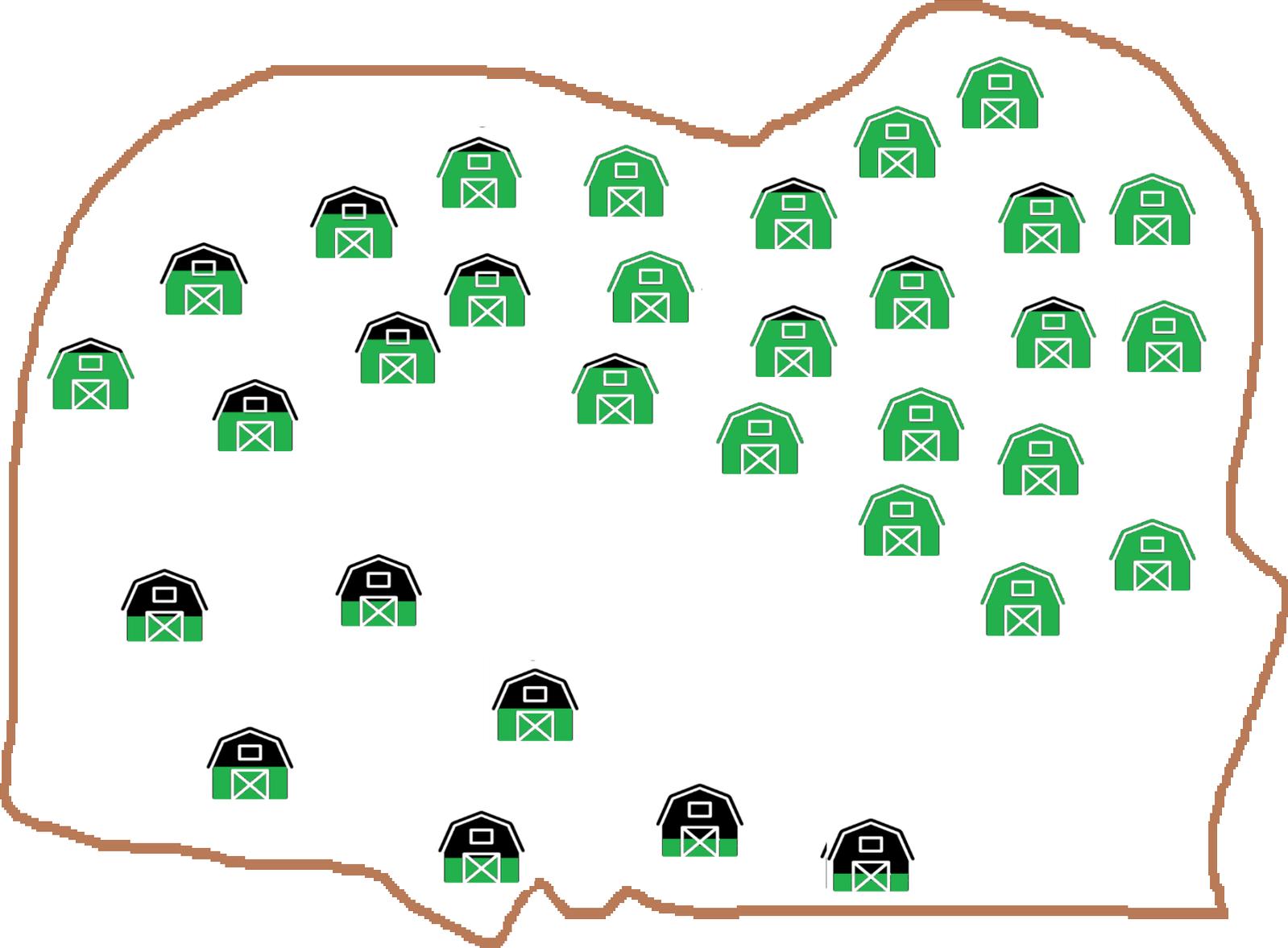
Escenario II: 80% de inmunidad constante



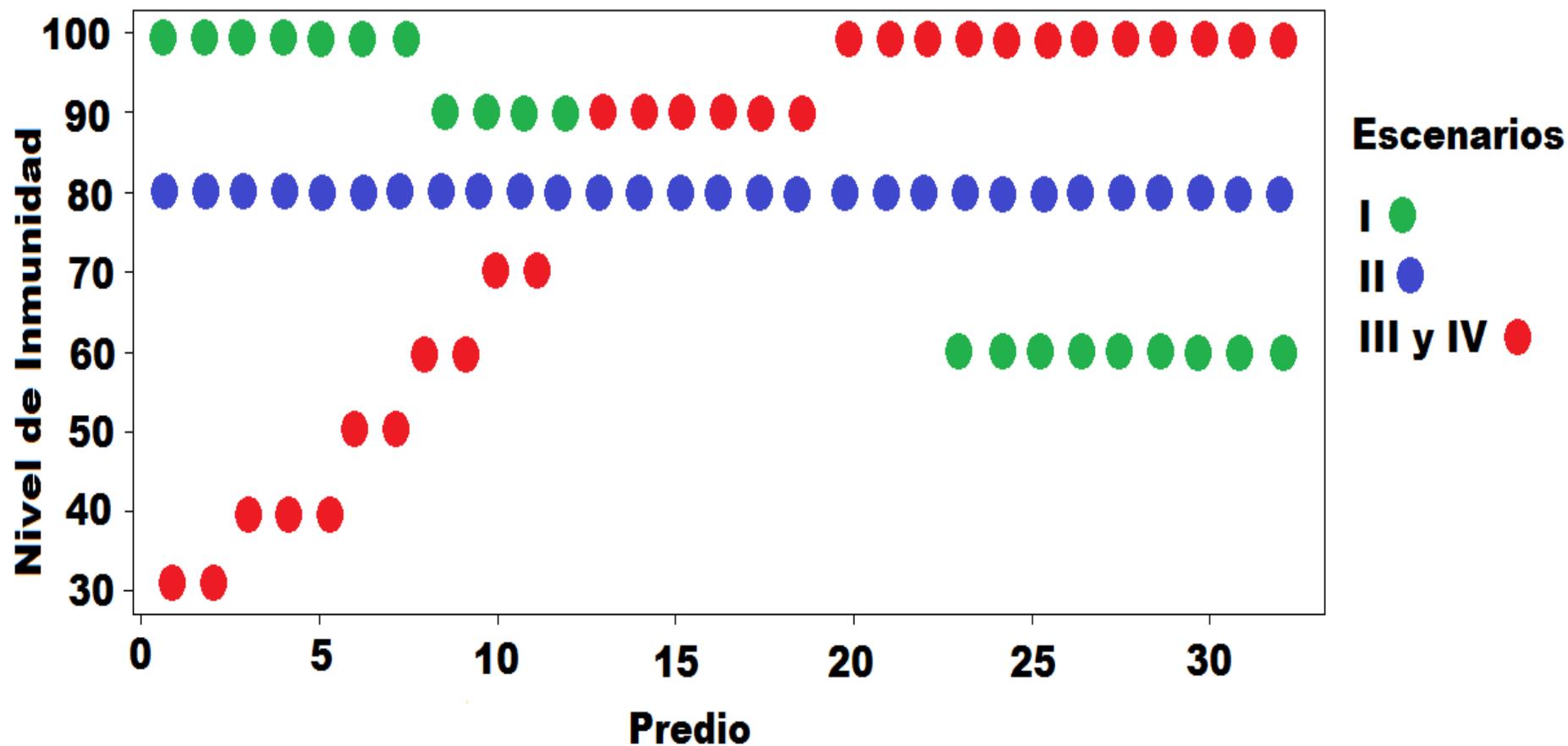
Escenario III: 30% con nivel sub-óptimos de inmunidad repartido de manera aleatoria



Escenario IV: 30% con nivel sub-óptimos de inmunidad agregados en una zona de frontera



Comparación de los resultados



Ejemplo simulado

- El escenario I nos sugieren una distribución de la inmunidad adecuada, pero **habría que investigar** los factores detrás de esos predios con 60%.
- El escenario II plantea una distribución **adecuada pero irreal**.
- El escenario III plantea una situación con **un alto porcentaje de predios con inmunidad sub-óptima que apremian una investigación para determinar los factores que influyen**.
- El escenario IV es como el III pero además hay una **aparente agregación espacial** que podría facilitar la instauración de un nicho endémico.

Contenido

- Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación
- Ejemplo simulado
- **Ejemplos de la Región - Metodología**
- Ejemplo los Resultados de Venezuela
- Conclusiones y Recomendaciones

Ejemplos de la Región

- En los años 2015 y 2016, con la cooperación técnica de PANAFTOSA-OPS/OMS, se han llevado a cabo dos estudios de inmunidad para evaluar las estrategias vacunales, focalizados en tener una buena estimación a nivel de predio.
- Estos se han realizado en el área Oriental de Ecuador y en el área Occidental de Venezuela.
- Presentamos a continuación los métodos.
- También los resultados principales del de Venezuela.



Objetivo del estudio

El estudio busca llevar a cabo **un muestreo diseñado para estimar la prevalencia** de la presencia de anticuerpos (en niveles compatibles con protección) para los serotipos O y A del virus de fiebre aftosa **a nivel de rebaño** (predio).

Se asume en este estudio que los anticuerpos detectados estarían asociados a la respuesta frente la vacuna.

Diseño del estudio

El estudio está planteado como transversal con **dos estadios:**

- el primero para la **selección de rebaños a muestrear;**
- y el segundo en el que **se selecciona animales dentro de los rebaños.**

El diseño lleva cuatro fases:

- I. Definición de **Áreas Epidemiológicas;**
- II.a. Estimación de **la sensibilidad y especificidad del rebaño** esperadas;
- II.b. **Estimación del número de rebaños** a muestrear y estructura del muestreo;
- y II.c. **Estimación del número de animales** a muestrear por rebaño.

Estimación del tamaño de muestra (I)

- **Estimación de la sensibilidad y especificidad del rebaño esperadas.**
 - El primer paso es saber cuáles son **las Se y Sp de rebaño esperadas**, que serán dadas en función de las características del test y la prevalencia esperada.
 - Para su estimación, **realizamos simulaciones para diferentes tamaños de rebaño, diferentes tamaños de muestra y puntos de corte** (el número de animales positivos detectados que determinan la categorización del rebaño como positivo) para obtener diferentes Se y Sp de rebaño, en diferentes escenarios.
 - Así, tras varias simulaciones observamos que asumiendo una Se de 0.9 y una Sp del 0.9 del test, se puede tener una Se de 0.9 y una Sp de 0.9 de rebaño.

Estimación del tamaño de muestra (II)

- **Estimación del número de rebaños a muestrear y estructura del muestreo:**
 - Una vez que se ha establecido la Se (0.9) y Sp (0.9) de rebaño esperadas, **se procede a calcular el número de rebaños a muestrear**, asumiendo una tolerancia (precisión) de entre 5 y 10% y un nivel de confianza del 0.95 y buscando una prevalencia de diseño del 75% (de rebaños vacunados que desarrollan respuesta inmunitaria, la teoría es que el 100% están vacunados).
 - Los valores también dependen de los recursos que se quieran destinar.
- **Estimación del número de animales a muestrear por rebaño:**
 - Se debe **determinar el número de animales a muestrear por cada categoría de tamaño de rebaño** considerando la estructura de nuestras subpoblaciones. Este número vendrá en función de la Se (0.9) y Sp (0.9) esperada a nivel de rebaño y de la prevalencia esperada intra-rebaño (90%).

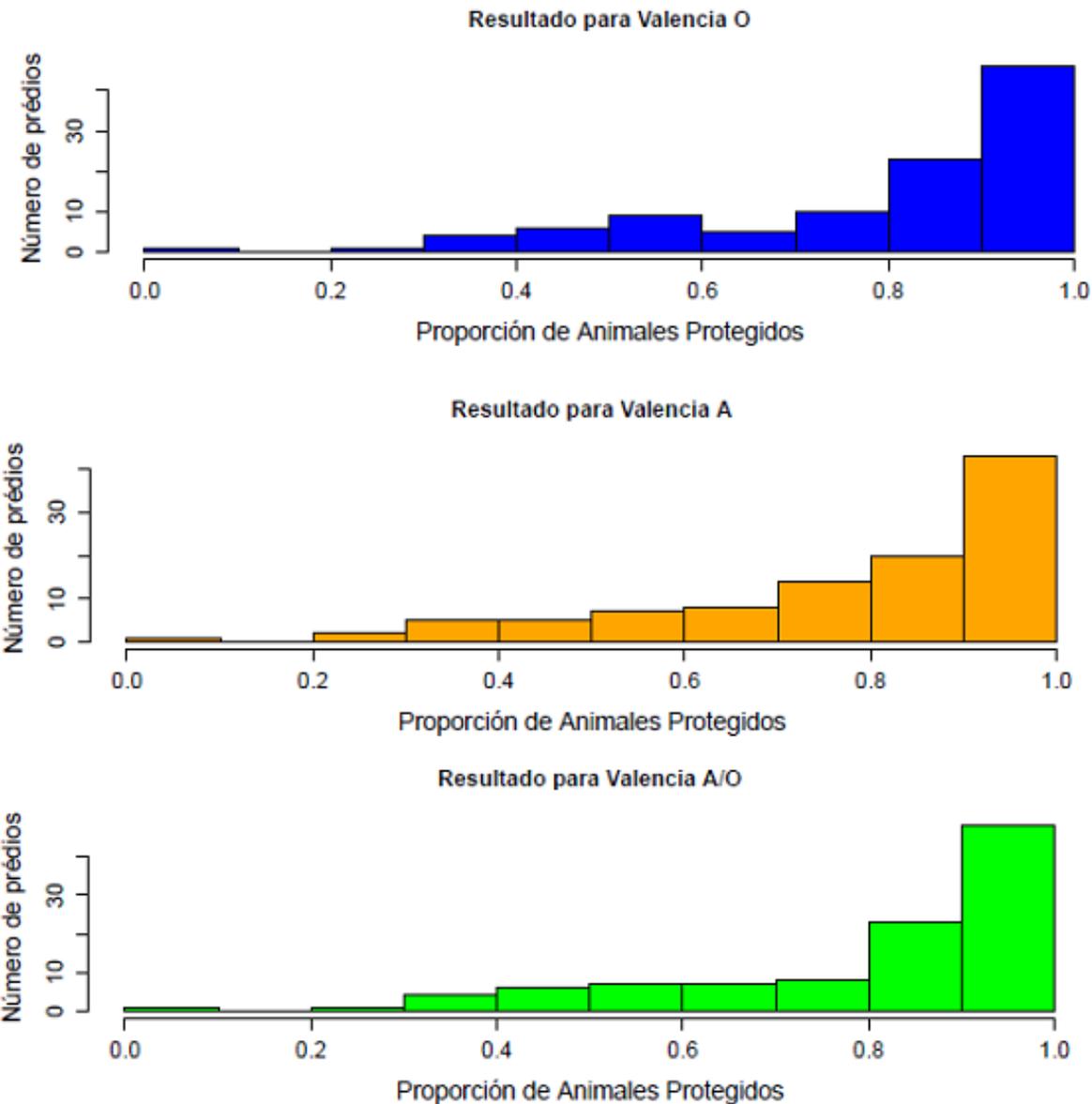
Contenido

- Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación
- Ejemplo simulado
- Ejemplos de la Región - Metodología
- **Ejemplo los Resultados de Venezuela**
- Conclusiones y Recomendaciones

Resultados en Venezuela

- Se muestrearon con éxito un total de **3,408 bovinos en 105 predios**, con una mediana de 36 muestras por predio (rango inter-cuartil de 28 a 39).
- Un total de 2757 bovinos fueron clasificados como protegidos frente al serotipo O, 2712 para el serotipo O y 2779 para cualquiera de los dos serotipos.
- La prevalencia aparente global de bovinos con inmunidad detectada frente al **serotipo O fue 0.81** (95% intervalo de confianza 0.8-0.82), **para el serotipo A de 0.8** (95% IC 0.78-0.81) y para cualquiera de los serotipos fue 0.82 (95% IC 0.8-0.83).

Distribución de resultados a nivel de predio por serotipo



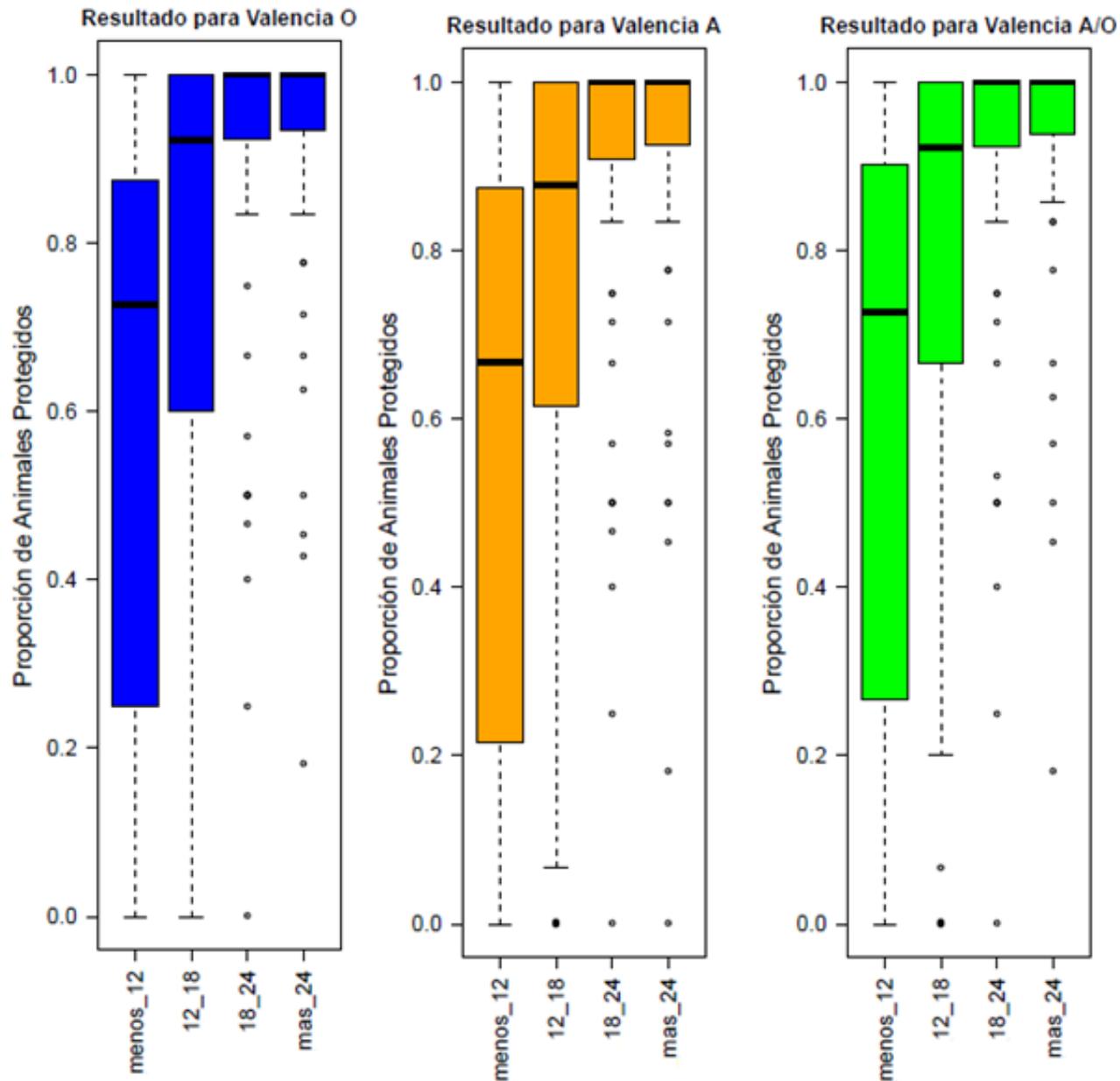
Prevalencia aparente por tamaño de predio estimada en base a los resultados del test ELISA- CFL

Tamaño de predio	Bovinos reactivos		Bovinos Totales	Prevalencia Aparente			
	A	O		A	95% IC	O	95% IC
Menos de 80	368	373	510	0.72	0.68-0.76	0.73	0.69-0.77
De 80 a 200	659	658	786	0.84	0.81-0.86	0.84	0.81-0.86
De 200 a 510	459	466	543	0.85	0.81-0.87	0.86	0.83-0.89
De 510 a 1500	574	589	783	0.73	0.7-0.76	0.75	0.72-0.78
De 1500	652	671	786	0.83	0.8-0.86	0.85	0.83-0.88

Prevalencia aparente por grupo etario estimada en base a los resultados del test ELISA-CFL

Edad	Bovinos reactivos		Bovinos Totales	Prevalencia Aparente			
	A	O		A	95% IC	O	95% IC
De 6 a 12	400	423	743	0.54	0.5-0.57	0.57	0.53-0.6
De 12 a 18	763	777	1001	0.76	0.73-0.79	0.78	0.75-0.8
De 18 a 24	435	438	475	0.92	0.89-0.94	0.92	0.89-0.94
Más de 24	1102	1106	1163	0.95	0.93-0.96	0.95	0.94-0.96

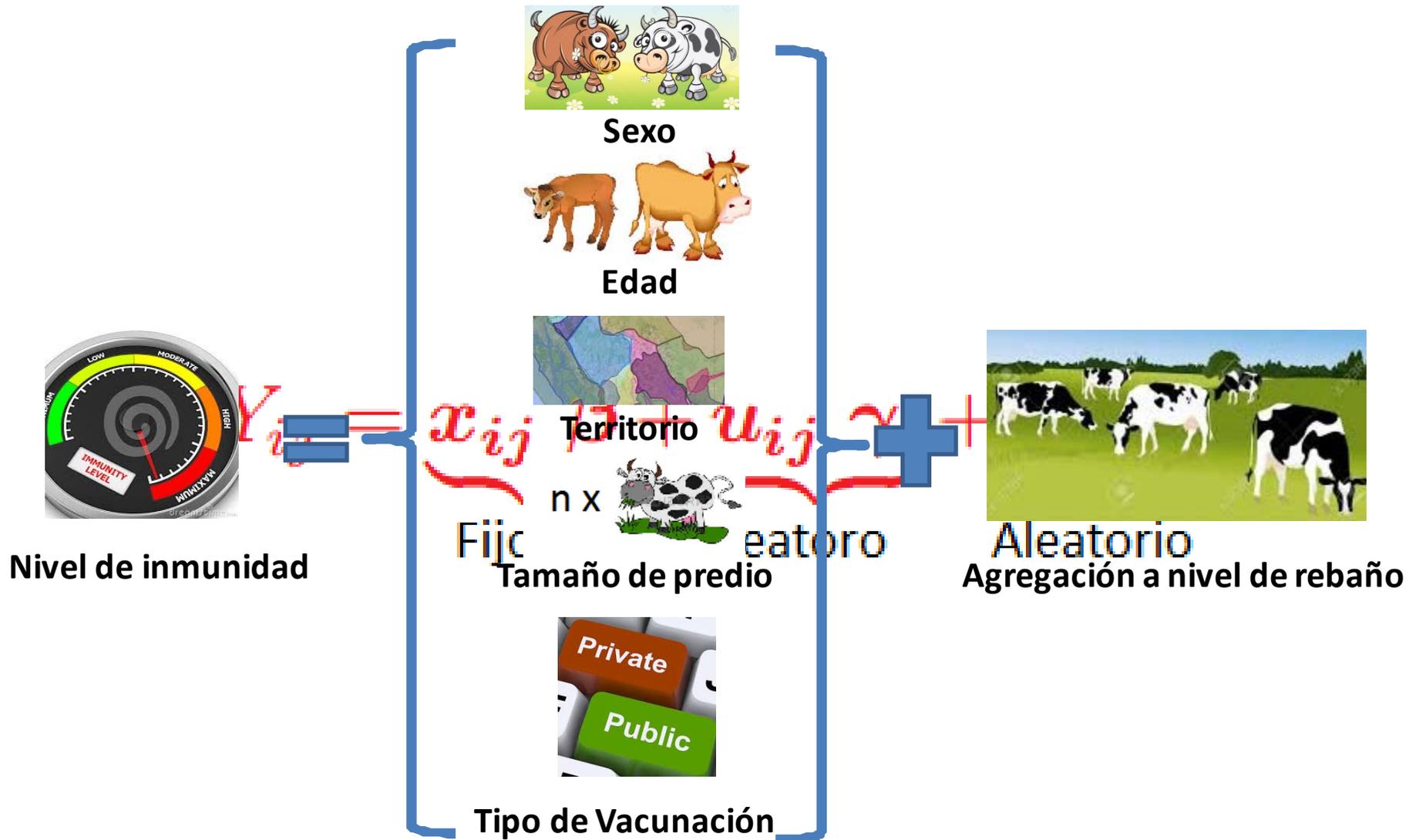
Distribución de resultados por grupo etario y agregado por predio



Análisis de factores de riesgo. Metodología estadística

- La prevalencia de anticuerpos frente a los serotipos A y O se modeló en función de las **covariables disponibles en el estudio**: sexo, edad, estado, tipo de atención y tamaño de predio.
- Se utilizó un **modelo lineal generalizado de efectos mixtos** (MLGM) binomial.
- En este último modelo se incluyó la **agrupación a nivel de rebaño**.
- El **Criterio de Información de Akaike** (AIC) se utilizó para la comparación entre las diferentes estructuras del modelo y también para comparar modelos anidados.
- El **test de Wald** se utilizó para examinar y presentar el nivel de significancia (valor de $p < 0,05$) de las variables.
- Los gráficos **diagnósticos de residuos** se utilizaron para detectar patrones de preocupación en el modelo.

Modelo de Efectos mixtos



Odds ratios estimadas para las covariables en el modelo lineal generalizado de efectos mixtos binomial (permitiendo agrupación de datos a nivel de rebaño) para la prevalencia de inmunidad frente al serotipo O de fiebre aftosa en bovinos muestreados de predios en Venezuela.

Variable para efectos fijos	Nivel	Odds ratio	95% Intervalo de Confianza
Sexo	Macho (línea base)	1	-
	Hembra	1.4	1.07-1.83
	Desconocido	0.96	0.07-14.01
Edad		1.09	1.08-1.11
Estado	Táchira (línea base)	1	-
	Apure	2.96	0.3-29.42
	Barinas	7.11	0.76-66.85
	Guárico	10.29	0.11-985.54
	Mérida	5.98	0.4-89.16
	Trujillo	22.42	1.51-16.63
	Zulia	3.91	0.32-48.35
Tipo de vacunación	Privada (línea base)	1	-
	Social	2.52	0.92-6.93
Tamaño de predio	Menos de 80 (línea de base)	1	-
	De 80 a 200	5.01	1.51-16.63
	De 200 a 510	9.15	2.13-39.36
	De 510 a 1500	4.71	1.23-18.1
	Más de 1500	12.3	3.18-47.51

Contenido

- Justificativa para investigar los niveles de inmunidad post- vacunación
- Ejemplo simulado
- Ejemplos de la Región - Metodología
- Ejemplo los Resultados de Venezuela
- **Conclusiones y Recomendaciones**

Conclusiones y Recomendaciones (I)

- Los resultados de niveles de anticuerpos detectados por la prueba ELISA- CFL **son satisfactorios en general.**
- Dentro de los factores investigados, para **edad encontramos los resultados esperados** en general con un incremento de la inmunidad en línea con el incremento de la edad.
- **Sexo aparece como un factor significativo** en los modelos multivariados investigados con las hembras teniendo mejores resultados. Esto puede ser debido a una influencia biológica que puede afectar a la inmunidad.

Conclusiones y Recomendaciones (II)

- **El tamaño del rebaño vemos que es un factor que influencia los resultados de inmunidad, tanto en las exploraciones estadísticas como en los resultados de los MGLMs:**
 - Cuando investigamos tamaño del rebaño junto con MLGMs en contexto con otros factores, incluyendo el tipo de atención, vemos como los rebaños pequeños son los que tienen peor inmunidad y los medianos (de 200 a 510) y los más grandes los que tienen mejores resultados.
- Los predios del estado de Táchira obtienen los peores resultados

Conclusiones y Recomendaciones (III)

- Sería recomendable **realizar un análisis de riesgo más profundo** (incluyendo más variables de interés) para identificar aquellas características de las granjas que están influenciando para obtener mejores o peores resultados,
 - pues estos **pueden ser útiles para tener en cuenta en el resto del territorio** y contribuir a identificar predios que puedan tener pobres niveles inmunitarios, y que por tanto serían más vulnerables frente a una reintroducción del virus.
- Igualmente, es necesario **identificar aquellos predios en particular que obtuvieron bajos niveles de inmunidad** para identificar qué factores pudieron influir y poder corregir el programa en futuras vacunaciones.

Participantes

- Compañeros de PANAFTOSA-OPS/OMS:
Alejandro Rivera, Rossana Allende, Rodrigo García, Lía Buzanovsky y Alexandre Santos
- Personal del INSAI en Venezuela
- AGROCALIDAD de Ecuador

www.paho.org/panaftosa



[Twitter/panaftosa_inf](https://twitter.com/panaftosa_inf)

[Facebook/kmcPANAFTOSA](https://facebook.com/kmcPANAFTOSA)