



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 45 2020 en el Horizonte: Desafíos para el PHEFA

Santa Cruz de la Sierra - Bolivia | 16 y 17 de abril del 2018

CARACTERIZACIÓN DE RIESGOS DE FIEBRE AFTOSA: EXPERIENCIA EN EL PROYECTO BID/CVP

Manuel Jose Sanchez Vazquez DVM MSc PhD

Coordinador del area Epidemiología

PANAFTOSA - OPS/OMS

Contenido

El proyecto

La justificación

Inmunidad predial

Herramientas aprendidas



El proyecto



Proyecto BID

El **Proyecto BID-CVP** está alineado con las estrategias establecidas en la **Guía Técnica** de Trabajo aprobada en la V Reunión Extraordinaria de la Comisión Sudamericana para la Lucha contra la Fiebre Aftosa (COSALFA) en 2016, que contempla los **lineamientos técnico-epidemiológicos** y metodológicos para enfrentar los principales desafíos a nivel de países y sub-regiones, **en la última fase prevista del Plan de Acción 2011-2020 del Programa Hemisférico para la Erradicación de la Fiebre Aftosa (PHEFA)**, teniendo como objetivo:

- **mejorar las capacidades de los profesionales de los Servicios Veterinarios Oficiales**, para iniciar la transición de zonas o países libres de fiebre aftosa con vacunación a zonas o países libres de fiebre aftosa sin vacunación



Puntos clave del proyecto

- Cuenta con la **participación de profesionales de los Servicios Veterinarios Oficiales de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay.**
- **Los taller teórico-prácticos** se realizan en la **sede de PANAFTOSA - OPS/OMS.** Rio de Janeiro, Brasil.
- Los **ejercicios de campo y muestreos** se realizan en el área integrada del **Departamento de Santa Cruz,** Bolivia, la que fue elegida como área piloto.
- Los **muestreos son realizados por equipos de campo del SENASAG,** **acompañados de técnicos** de los países participantes en el Proyecto y de PANAFTOSA-OPS/OMS.
- Las **muestras son procesadas en el laboratorio LIDIVET del SENASAG.** Las muestras fueron sometidas a pruebas de CFL para determinar el título de anticuerpos contra los virus O y A en un primer muestreo, y por ELISA 3ABC/EITB para descartar presencia de transmisión viral.
- Los **predios seleccionados para el muestreo son encuestados** para obtener datos geográficos, demográficos, productivos y de manejo animal, para ser luego aplicados en el trabajo de caracterización de riesgos.

Actividades de los Cursos

El proyecto combina talleres teórico- prácticos, con actividades de campo:

- **Primer taller de Caracterización de Riesgo**
- **Un Taller preparatorio para un primer Muestreo serológico** dedicado a estimar la prevalencia de anticuerpos vacunales de fiebre aftosa en el área piloto del Departamento de Santa Cruz de la Sierra.
- **Realización del primer Muestreo Serológico** en 104 predios del área piloto obteniendo muestras de los predios seleccionados aleatoriamente para la estimación de la inmunidad post-vacunación.
- **Segundo taller de Caracterización de Riesgo**
- **Primer taller de Vigilancia Basada en Riesgo** para Fiebre Aftosa.
- **Un Taller preparatorio para un Segundo Muestreo** serológico dedicado a detectar transmisión viral en el área piloto.
- **Realización del segundo Muestreo Serológico** en el área piloto del Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, para la detección de transmisión viral obteniendo muestras de 150 predios seleccionados para detección de transmisión viral.



La justificación

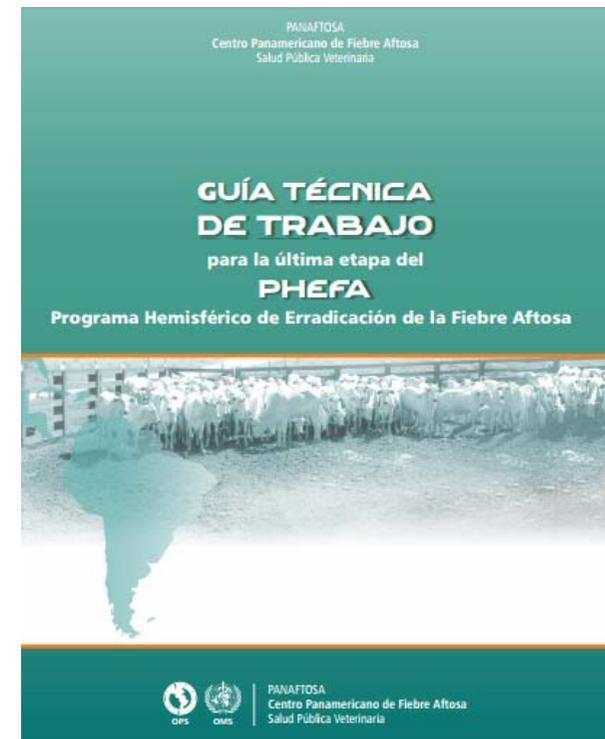


Investigar los niveles de inmunidad post-vacunación (i)

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)

- Es importante evaluar la respuesta inmunitaria en los animales vacunados, **pues la cobertura de la vacunación** (animales vacunados) **no implica directamente que exista 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 cuando no hay cooperación por parte de los productores,
 - Problemas relacionados a 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.

Caracterización

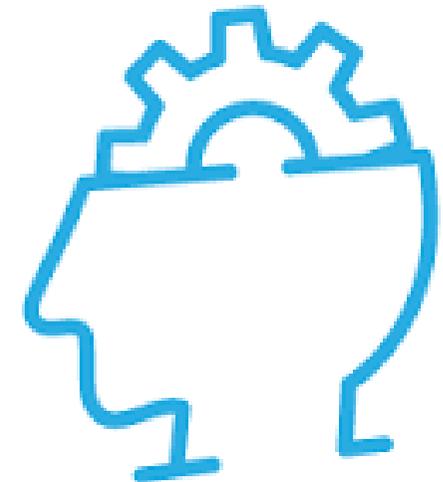
- La Real Academia define *caracterizar* como "**determinar los atributos peculiares de alguien o de algo, de modo que claramente se distinga de los demás**".
- Este concepto es muy **útil a la hora de trabajar con niveles de riesgo en epidemiología**, particularmente si lo enfocamos a identificar regiones o agrupaciones que tengan unas características de riesgo que se distingan claramente de las demás.
- Nos **ayuda a focalizar nuestro campo de acción** y a entender mejor nuestra población.

Inmunidad predial

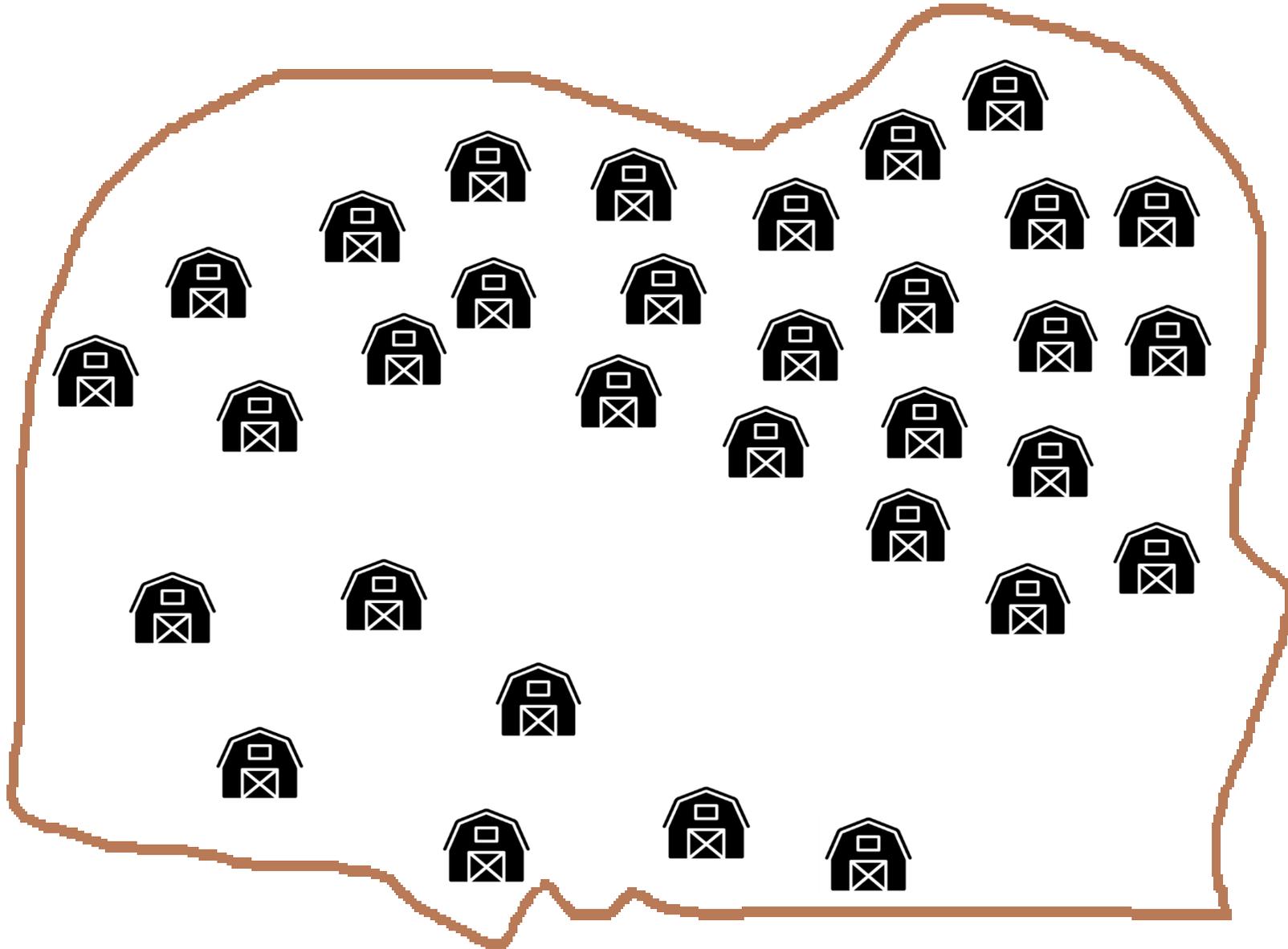


Ejemplo simulado

- 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.

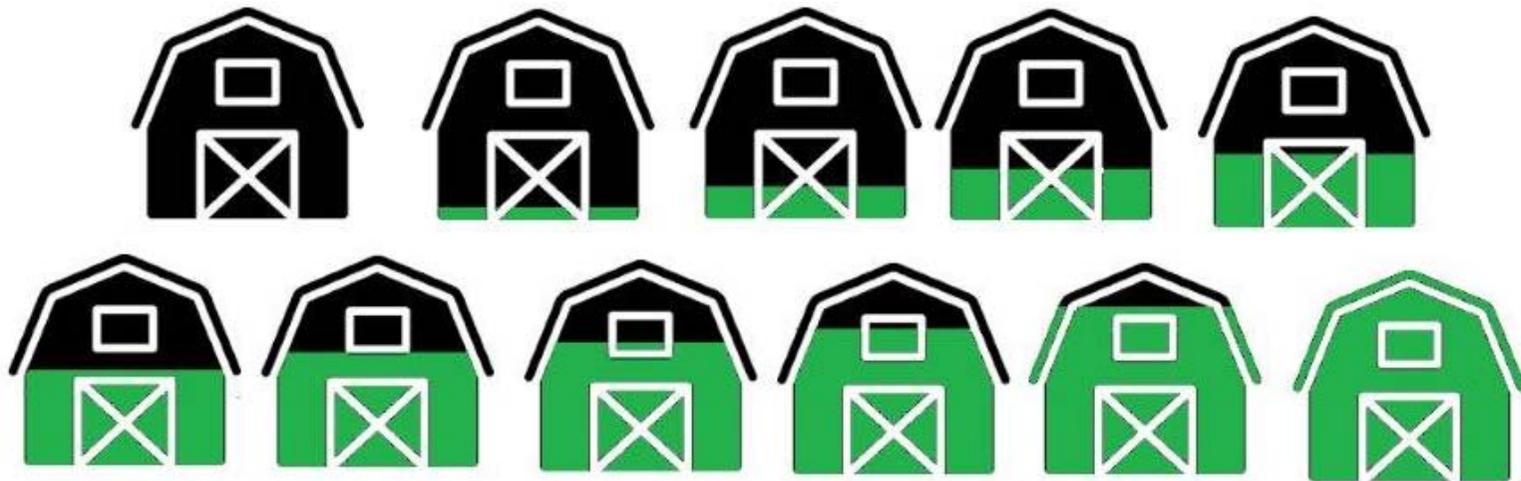


Un país con los 32 predios

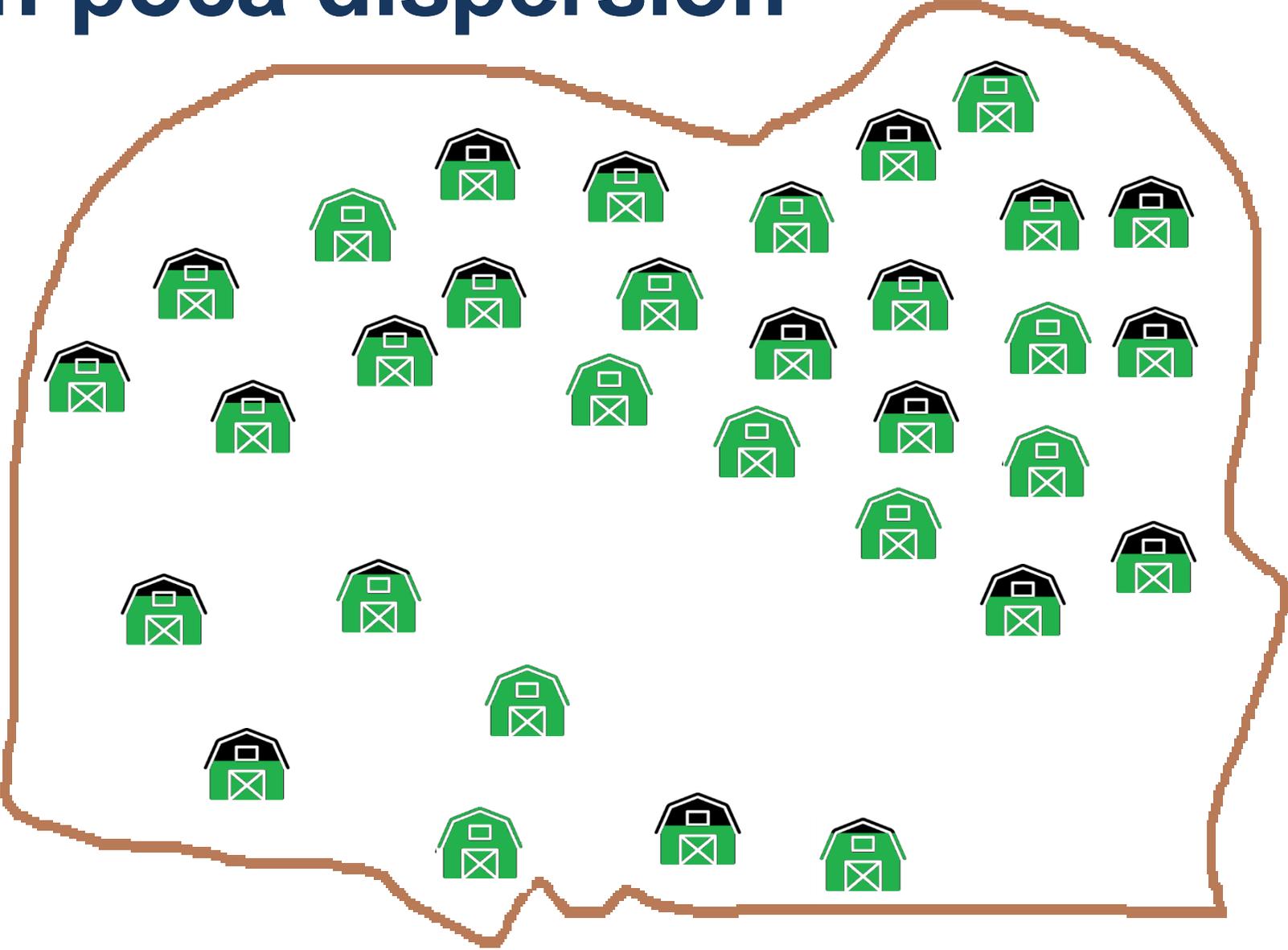


Representación del nivel de inmunidad

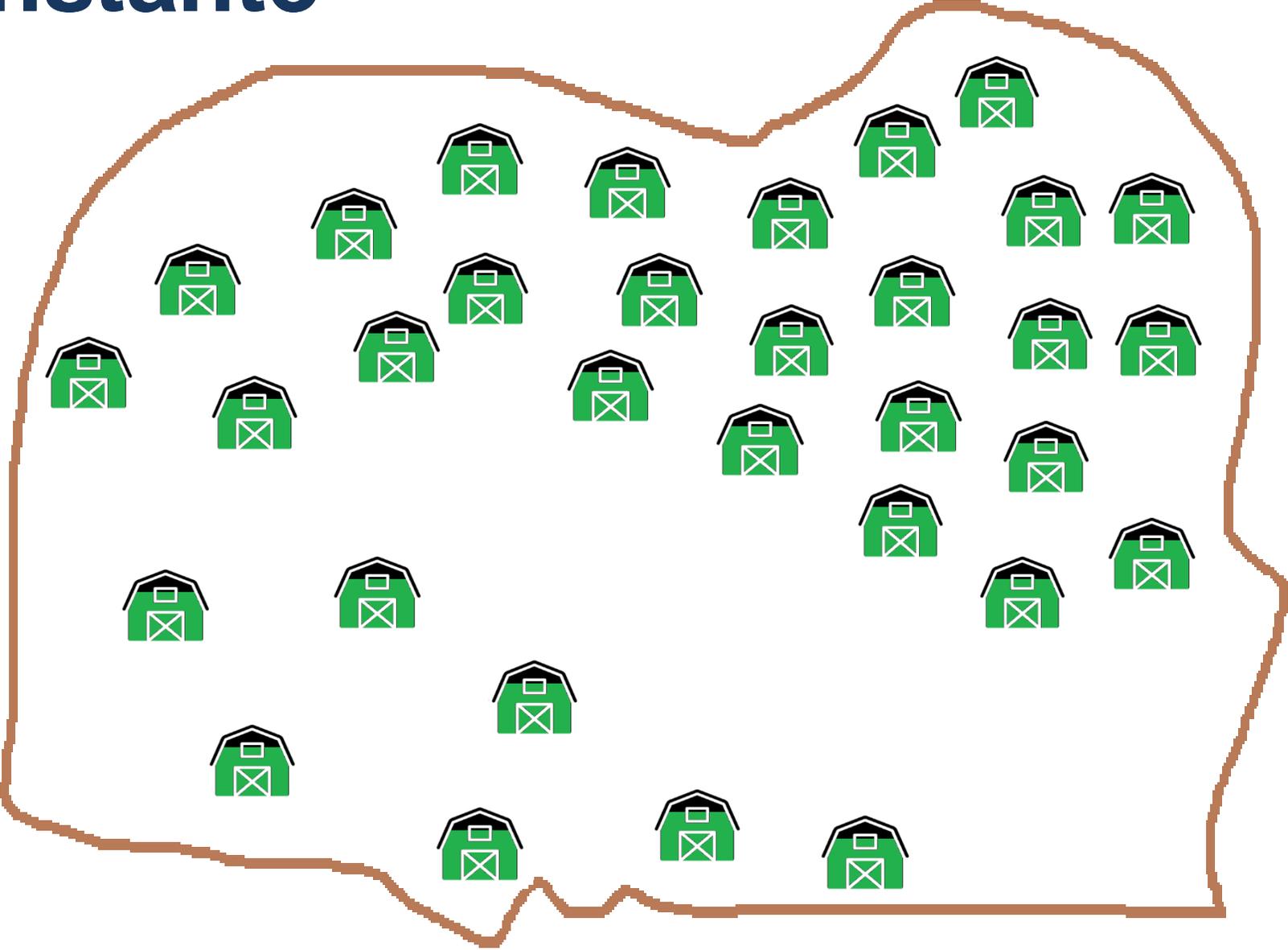
- Ilustramos en este ejemplo el nivel de inmunidad predial, de 0 a 100%, en función de como están de rellenadas de verde los iconos de las granjas



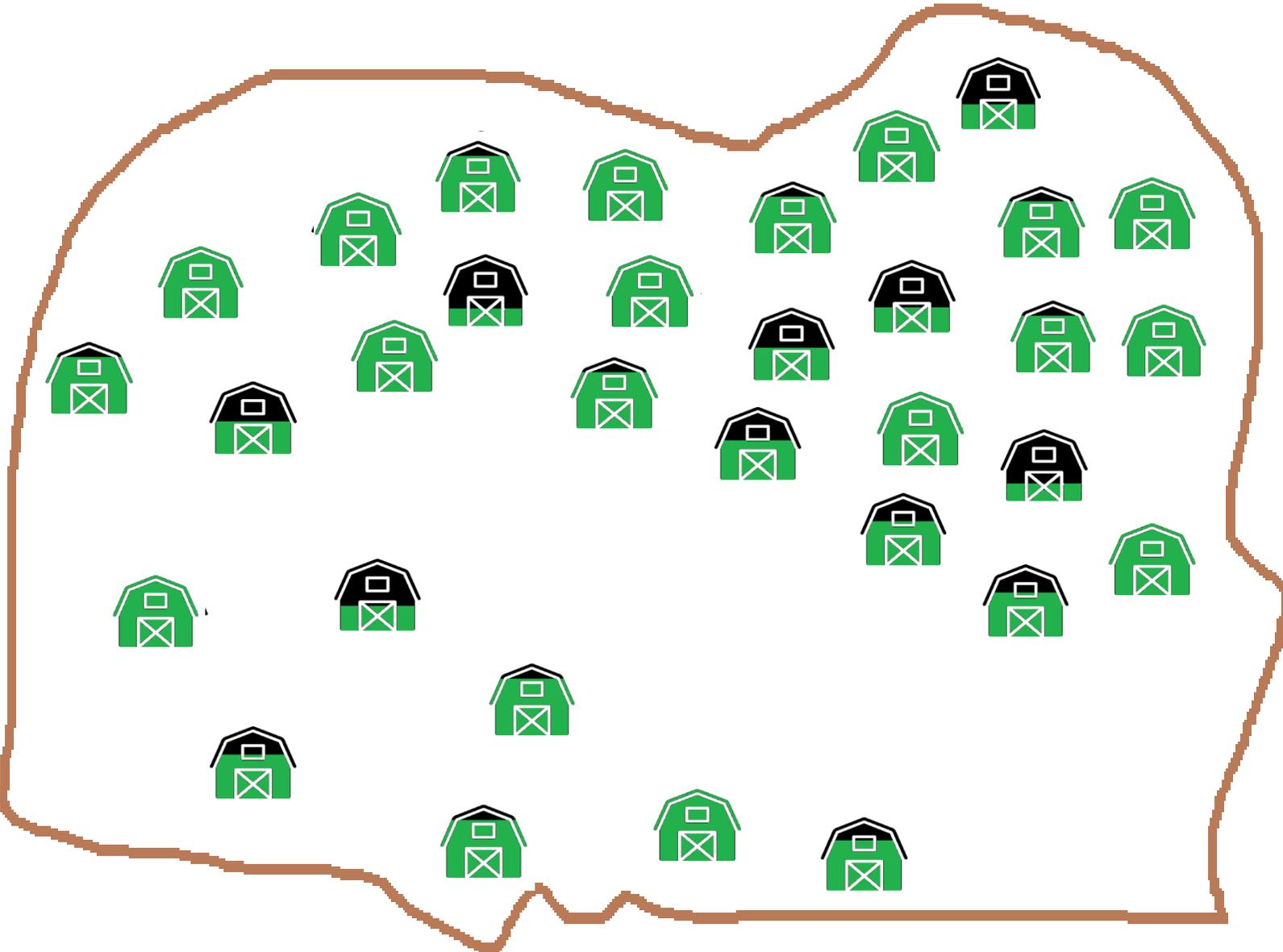
Escenario I: Buena inmunidad con poca dispersión



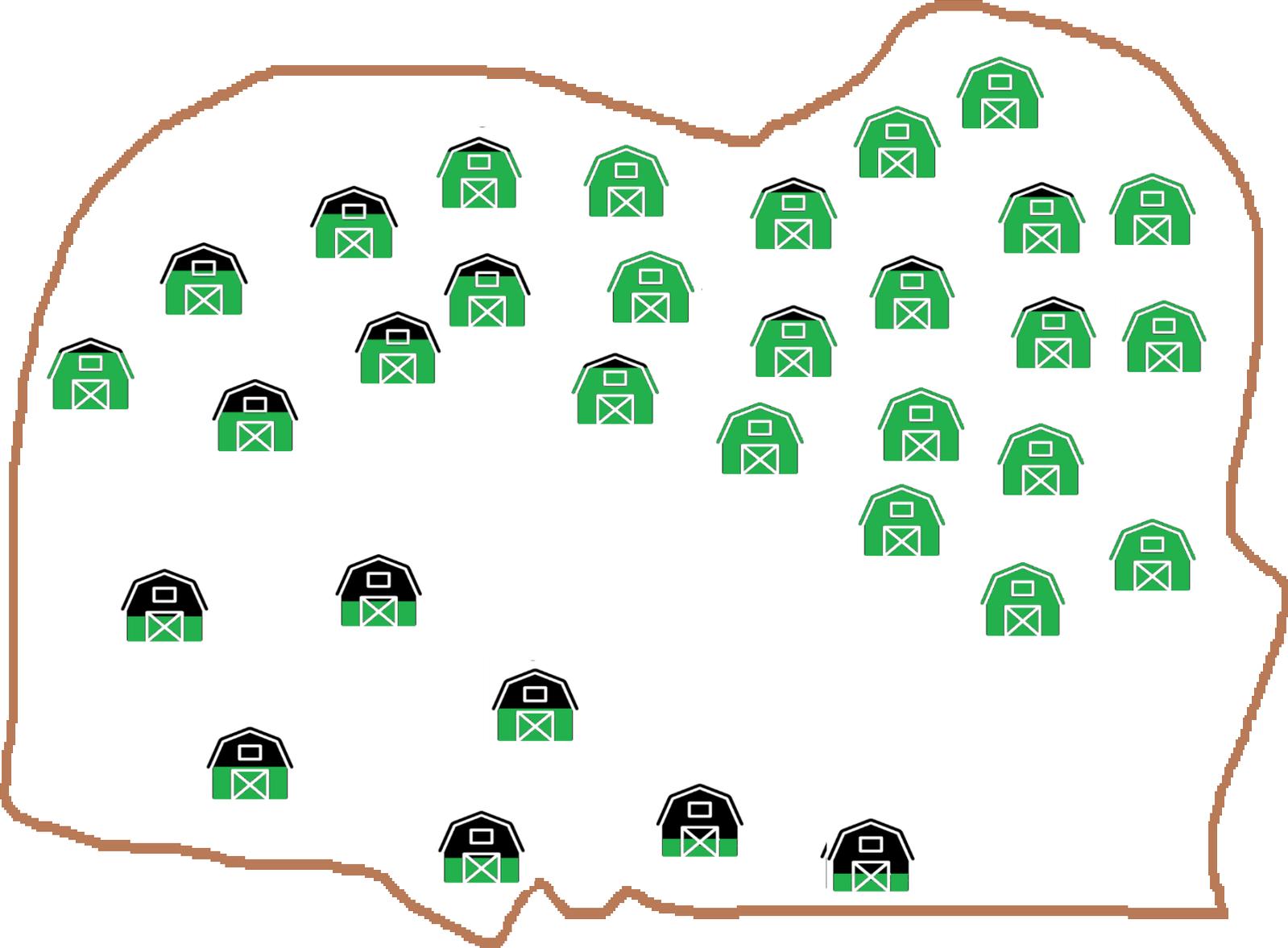
Escenario II: 80% de inmunidad constante



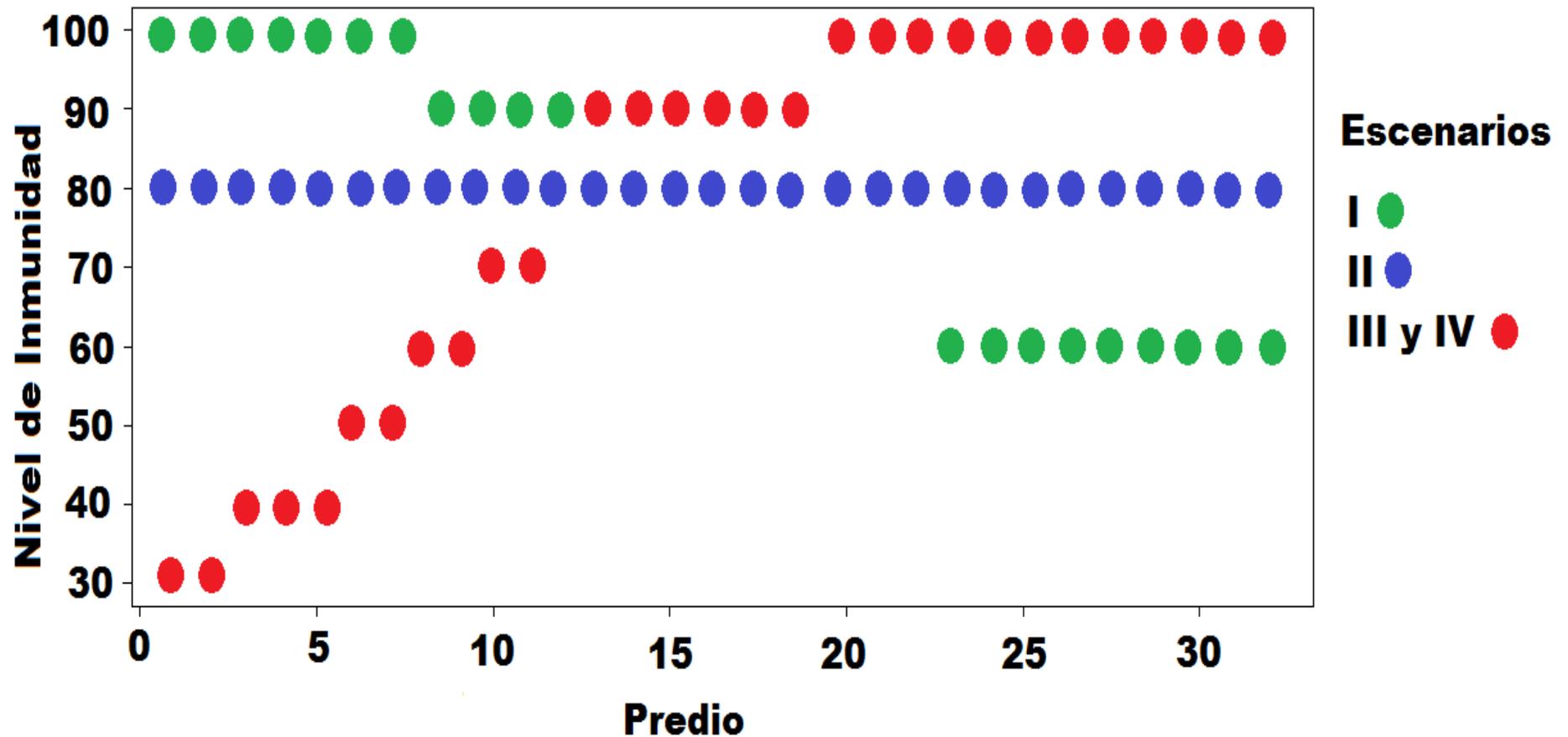
Escenario III: 30% con nivel sub-óptimos de inmunidad repartido de manera aleatoria



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



Comparación de los resultados



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, caracterización**
 - 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)

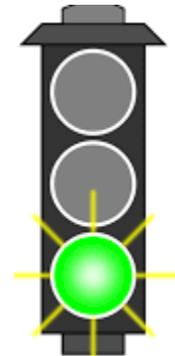
- Estos resultados pueden **informar estudios de circulación viral**, pues cuanto menos inmunidad, más riesgo de presencia del virus
 - y si hay **niveles sub-óptimos agregados espacialmente, podrían facilitar la instauración de nichos**.
 - En general, este tipo de diseño nos permite obtener un **diagnóstico 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.

En el contexto Regional (i)

Después de un período de focos, **tras implementar la vacunación para el control y erradicación de focos**, y desaparición de la presentación clínica, realizamos un estudio de inmunidad:

Si el **nivel de inmunidad es bueno y uniforme** nos indica que cualquier posibilidad de transmisión viral estaría interrumpida.

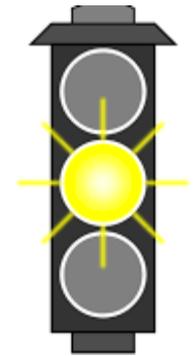
- Si la vacunación se ha presentado durante los suficientes ciclos de manera consistente, se tiene que evaluar el manteniendo de la vacunar.



En el contexto Regional (ii)

Si el **nivel de inmunidad es sub-óptimo y/o poco uniforme**, puede permitir la existencia de nichos de baja inmunidad donde puede instaurarse transmisión viral.

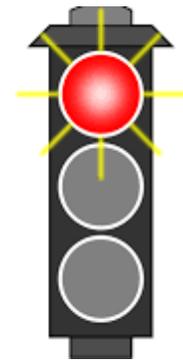
- Con este diagnóstico de situación se debería corregir la estrategia de vacunación emendando las deficiencias identificadas.



En el contexto Regional (iii)

Si el **nivel de inmunidad es bajo en algunas áreas o tipos de predio**, cabría la posibilidad de que no sólo haya trasmisión viral sino que se instauren casos clínicos que se detectarían en vigilancia pasiva.

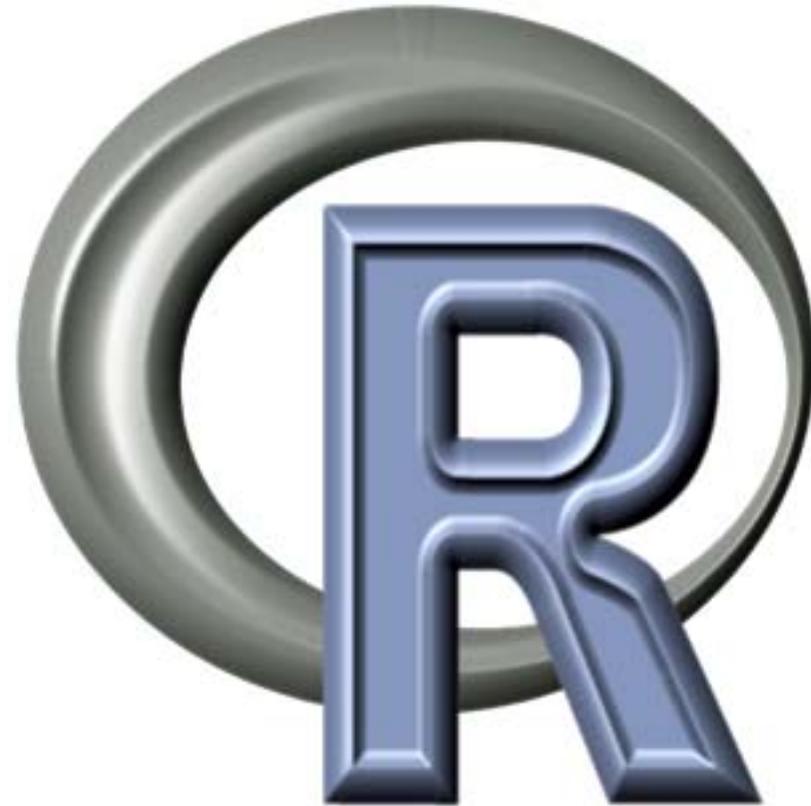
- En ese contexto, y con evidencia de ausencia de enfermedad, se tiene que reevaluar el uso de la vacuna



Herramientas aprendidas



Trabajar en R



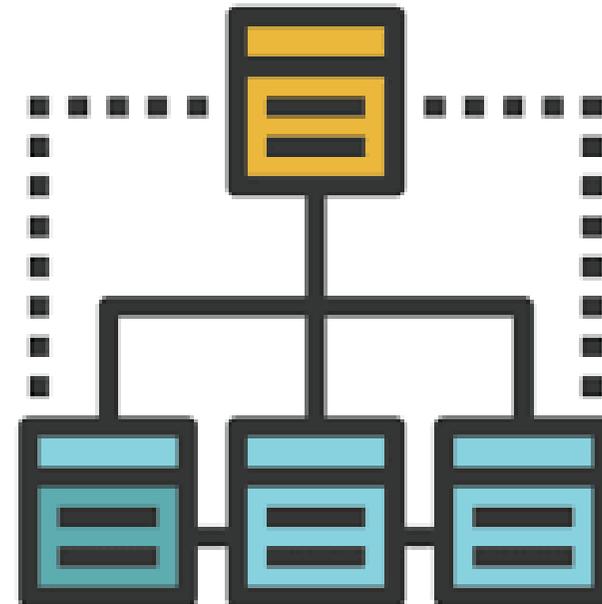
R

- R es un lenguaje de programación para realizar manejo de datos, estadística y gráficos.
- Es de libre acceso y muy versátil.
- Es ampliamente utilizado entre estadísticos, mineros de datos, universidades, empresas de estudio de mercado, etc.
- Tiene una línea exponencial de aprendizaje



**R nos da el soporte para
Manejar nuestros datos y
realizar el diseño y los
analisis necesarios**

Plantear el diseño de un estudio de inmunidad en dos niveles, predio y animal



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 estadíos:**

- 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:

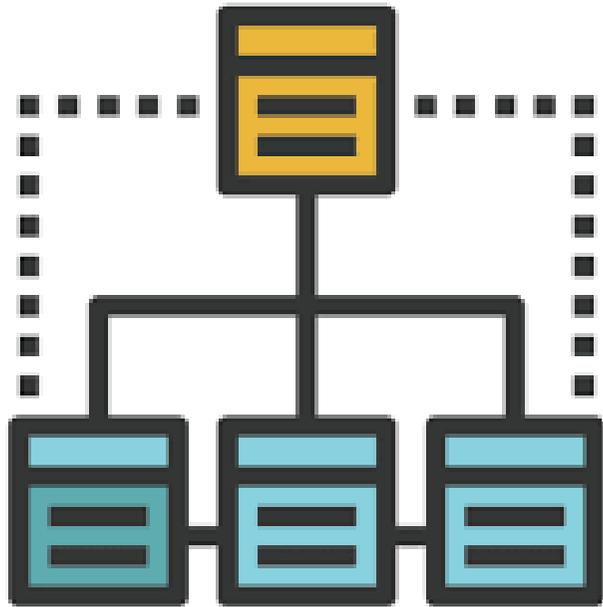
- I. Definición de **Áreas Epidemiológicas;**
- II.a. Estimación de **la sensibilidad y especificidad del rebaño esperadas;**
- II.b. **Estimación del número de rebaños a muestrear y estructura del muestreo;**
- y II.c. **Estimación del número de animales** a muestrear por rebaño.

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 de entre 75-90 % (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%).



Con este diseño podemos tener una buena estimación de la prevalencia entre e intra predio

Cuestionario de campo



El cuestionario

Información sobre el predio en relación al programa de vacunación que puede estar disponible en la oficina

- Lote/laboratorio de la vacuna
- Brigadista
- Tipo de vacunación:
 - Asistida o fiscalizada
- Origen del almacenamiento de la vacuna
 - Indicar la asociación de ganaderos o distribuidora
- Además podemos incluir información sobre los brigadista (experiencia, numero de predios/animales por día, capacitaciones atendidas)

Información sobre el predio a preguntar en la visita previa

- Sobre localización:
 - Confirmar geolocalización
 - Accesibilidad al predio todo el año si o no
 - Evaluación de la brigada (subjativa) de la accesibilidad (en función del tiempo destinado) buena, regular y mala
- Sobre el Stock
 - Numero de bovinos por grupo etario
 - Otras especies presentes (enumerar)

El cuestionario (ii)

Sobre facilidades de manejo:

- Instalaciones con Brete/corral/nada
- Luz eléctrica
- Disponibilidad de personal de asistencia del predio

Sobre tipo de explotación:

- Principal actividad:
 - Leche (incluyendo aquellos que venden terneros para carne)
 - Carne (tanto las explotaciones de cría como de cebo)
 - Mixta (explotaciones con las dos actividades, pueden ser explotaciones con razas de aptitud mixta o explotaciones con razas de leche y razas de carne)
- Extensivo/semi-intensivo/intensivo
- Familiar-subsistencia/comercial
- Cría/cebadero-engorde-confinamiento/ciclo completo
- Destino en caso de carne:
 - (respuesta múltiple) Matadero-camal/otro predio/feria
- Destino en caso de leche:
 - (respuesta múltiple) industria/comercialización propia
- Superficie del predio

El cuestionario (iii)

Información sobre el predio a verificar usando mapeo y registro oficiales:

- Zona/área (evaluar todos los proxis de geografía y vegetación... Ver con Lia)
- Distancia desde el sitio de recogida de la vacuna
- Movimientos de entrada (un año)
- Movimientos de salida (un año)

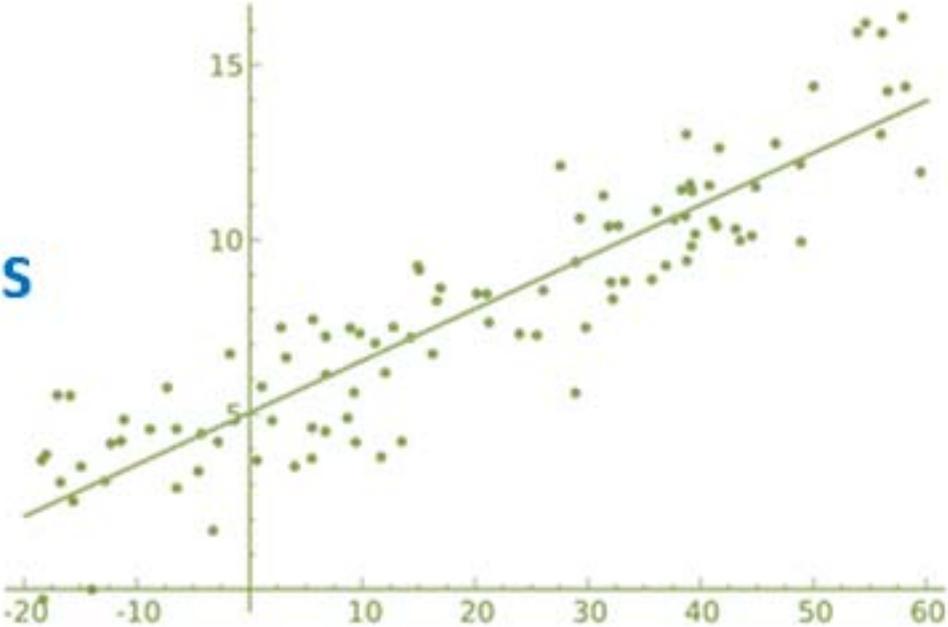
Información individual de los animales muestreados a registrar en la toma de muestras

- Identificación
- Edad del animal (meses aprox.)
- Sexo del animal
- Raza del animal (Holstein/gyr/gyroland/jersey/nelore/brama/angus/brown-swiss/mestizo/otras)
- Animal nativo del predio o de otro predio



**Con el cuestionario
obtenemos información para
caracterizar nuestros predios**

Modelos multivariables

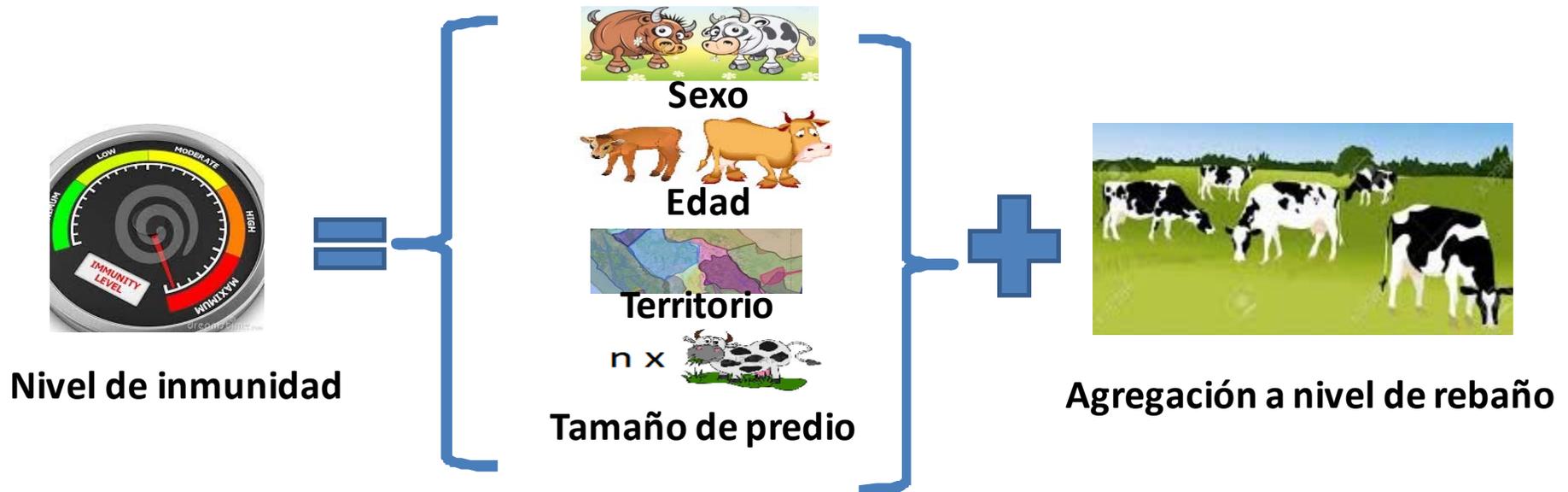


Análisis de factores de riesgo. Metodología estadística

- 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.

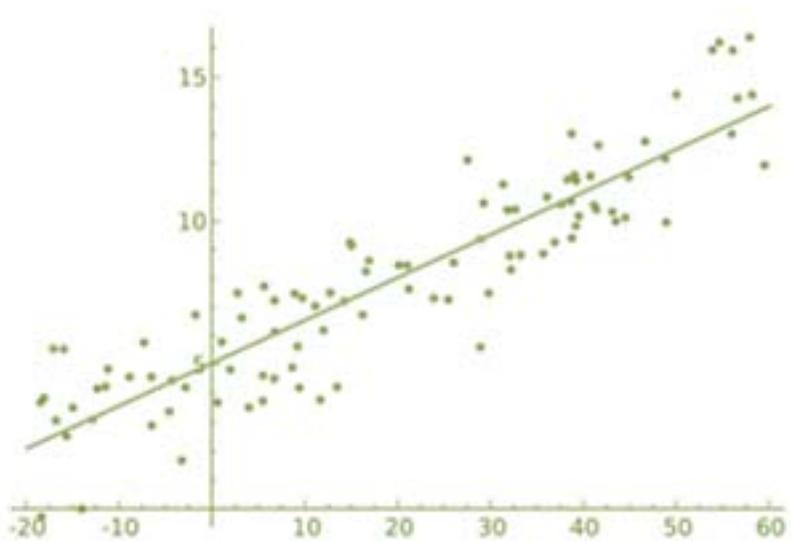
Modelo de Efectos mixtos

$$Y_{ij} = \underbrace{x_{ij} \beta}_{\text{Fijo}} + \underbrace{u_{ij} \gamma_i}_{\text{Aleatoro}} + \underbrace{\epsilon_{ij}}_{\text{Aleatorio}}$$



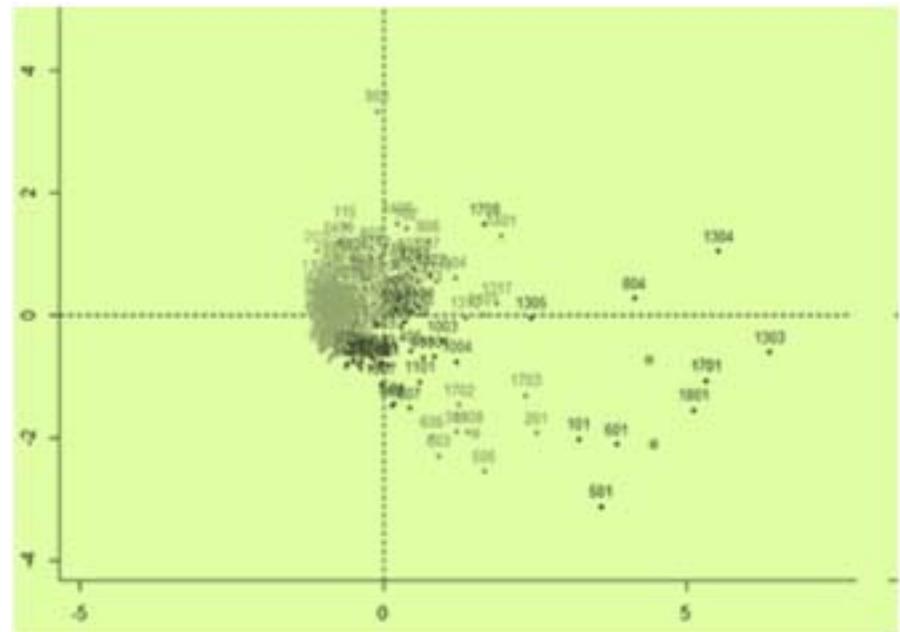
Odds ratios estimadas para las covariables en el modelo lineal generalizado de efectos mixtos binomial (permitiendo agrupación de datos a nivel de rebaño) para la prevalencia de inmunidad frente al serotipo O de fiebre aftosa en bovinos muestreados de predios .

Variable para efectos fijos	Nivel	Odds ratio	95% Intervalo de Confianza
Sexo	Macho (línea base)	1	-
	Hembra	1.4	1.07-1.83
Edad		1.09	1.08-1.11
Provincia	A (línea base)	1	-
	B	2.96	0.3-29.42
	C	7.11	0.76-66.85
	D	10.29	0.11-985.54
	E	5.98	0.4-89.16
	F	22.42	1.51-16.63
	G	3.91	0.32-48.35
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



Los modelos multivariantes nos permiten identificar aquellos factores asociados con el nivel de inmunidad de nuestros predios

Modelos multivariantes

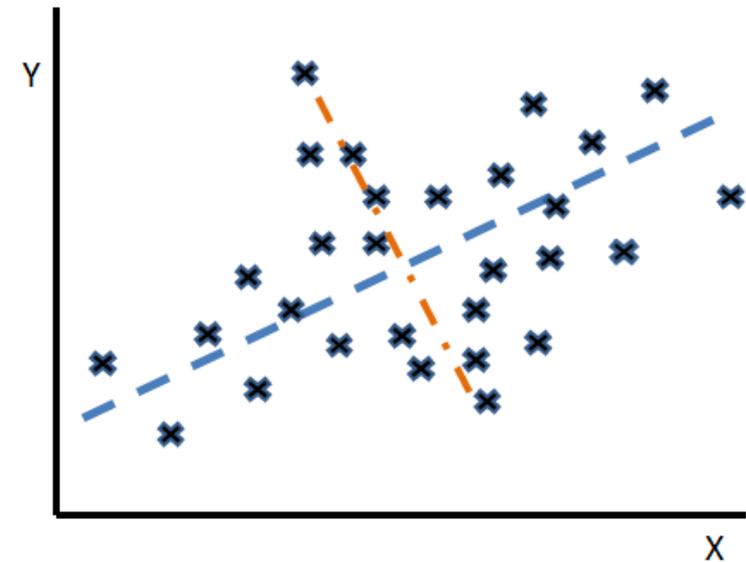


Antecedentes-modelos multivariantes (I)

- Los **modelos multivariantes** son aquellos que tratan de explicar cómo **un conjunto de variables están asociadas entre sí**.
- Para estos estudios, no queremos partir de una variable dependiente (respuesta), sino que queremos tratar **todas las variables como independiente** (explicativas).
- Los métodos más **tradicionales buscan una reducción de las dimensiones de un dominio de datos para explicar la variabilidad que encierran**, frente a otros métodos de uso más reciente que explican las asociaciones sin la reducción de dimensiones.

Antecedentes-modelos multivariantes (II)

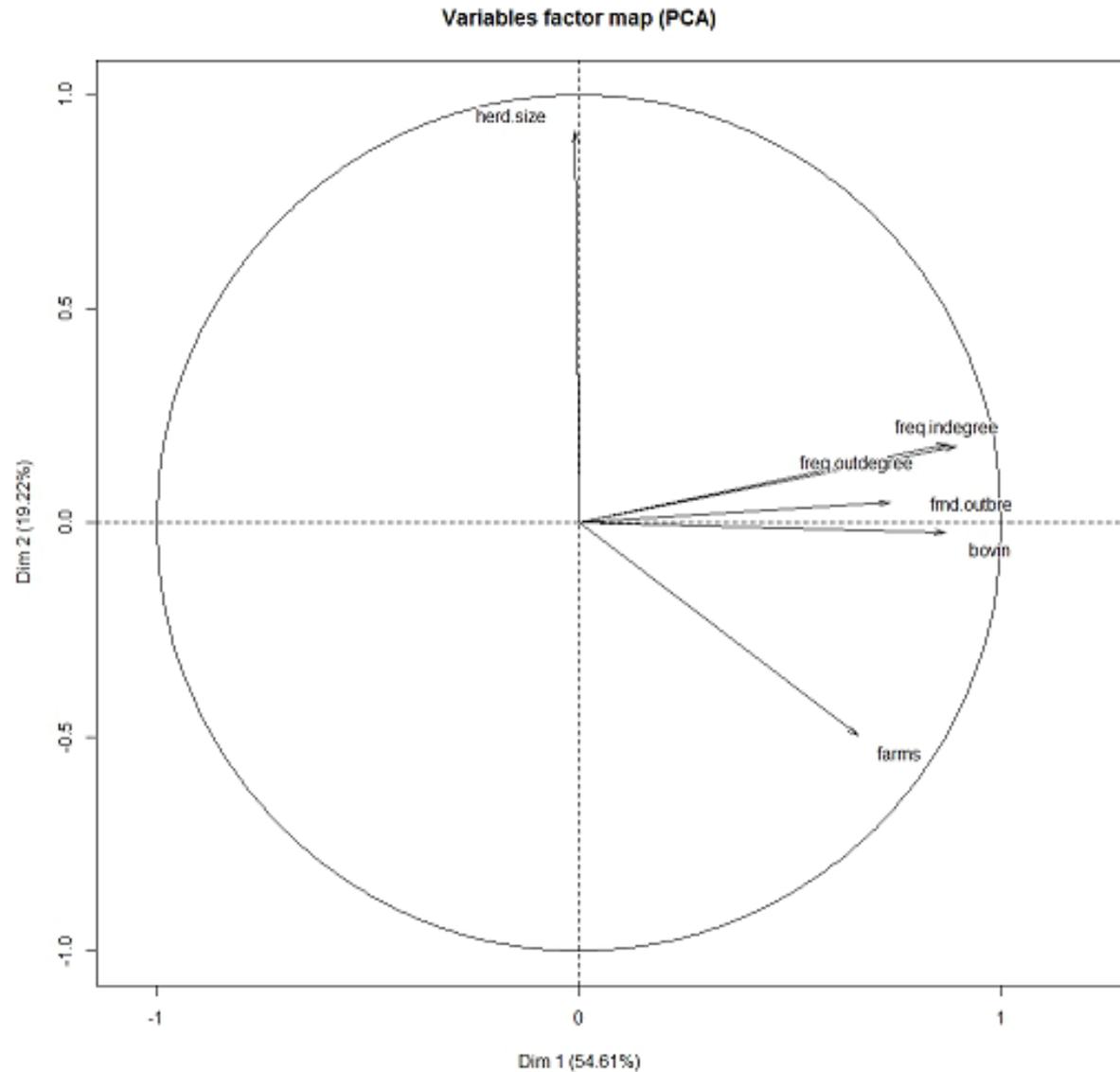
- Técnicas multivariantes, como el **análisis de componentes principales y de factores**. **utilizan la reducción de dimensión** para facilitar la identificación de subgrupos no correlacionados de las variables (es decir, los componentes principales y los factores).
- Asumimos que las observaciones se encuentran en un espacio multidimensional euclideo (como una nube) y estas técnicas buscan comprimirlas en componentes más simples que representen la variabilidad esencial, útil.
- Otra metodología es la **agrupación jerárquica**.
- La agrupación jerárquica requiere definir una distancia (Manhattan, euclidiana, etc.), y un criterio de aglomeración (Ward, centroide, etc.).
- La jerárquica se representa a través de un dendograma.



Descripción del estudio

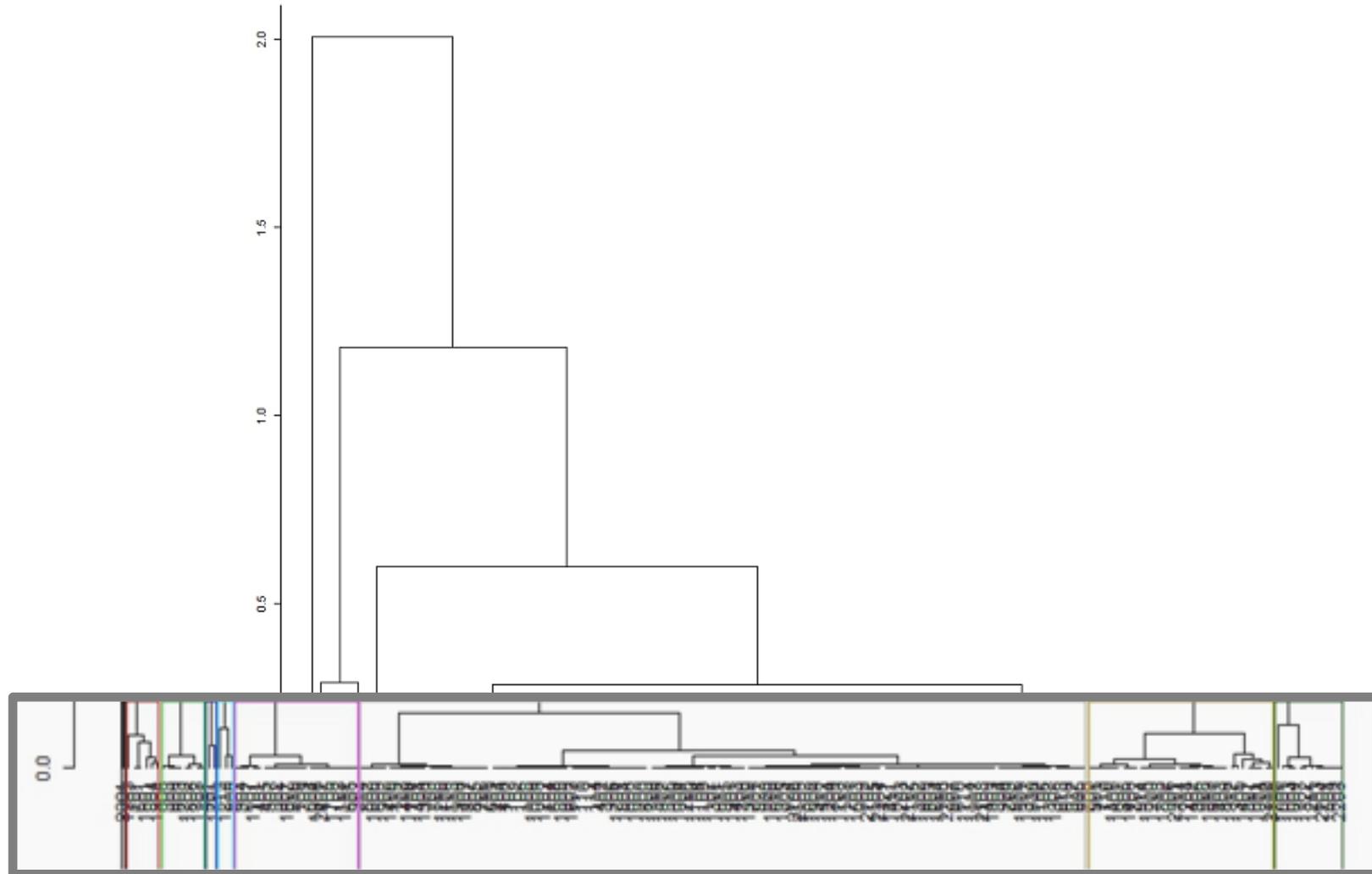
- Se parten de los siguientes factores:
 - **Número de predios en el área**
 - **Total de bovinos**
 - **Índice de proporción de vacas por predio**
 - **Total de movimientos de salida en el cantón**
 - **Total de movimientos de entrada en el cantón**
 - **Brotos históricos en la zona**
- Para ello se combinó **la metodología de análisis de componentes principales junto con una agrupación jerárquica**, discriminando de manera exhaustiva clústeres de predios en función de su similitud con respecto a la presencia de los indicadores de riesgo.

Los componentes principales



Podemos observar las dimensiones definidas por los componentes o factores principales

Dendrograma de varianza con la estructura jerárquica de los clústeres



Después de las clusterización

Como resultado de estos análisis se diferenciaron **clústeres** (estadísticos no espaciales) de unidades:

- que guardan una **asociación negativa con los indicadores de riesgo** (considerados cantones con riesgo bajo)
- en comparación con **otras unidades que tienen una asociación positiva con los indicadores de riesgo** (considerados de riesgo alto).

Resultados por clúster

Cluster 1	v.test	Media em la categoria	Media global
freq.indegree	13.23	35,994	832.87
freq.outdegree	10.55	20,205	835.39
fmd.outbreaks	9.25	22	0.73
bovines	7.07	232,256	21039.86
farms	2.88	6,781	1326.37
Cluster 2	v.test	Mean in category	Overall mean
bovines	8.04	110,553.57	21039.86
farms	7.34	6,503.86	1326.37
freq.outdegree	7.23	5,781.14	835.39
freq.indegree	3.36	4,163.14	832.87
Cluster 3	v.test	Mean in category	Overall mean
farms	7.77	6,439.38	1326.37
bovines	2.48	46,743.88	21039.86
herd.size	-2.18	4.38	13.74
Cluster 4	v.test	Mean in category	Overall mean
fmd.outbreaks	6.64	11.50	0.73
farms	5.41	8,552.50	1326.37
bovines	2.91	82,382.50	21039.86
Cluster 5	v.test	Mean in category	Overall mean
herd.size	11.53	114.25	13.74

Cluster 1: Todo alto!

Cluster 4: Bastantes bovinos y granjas y muchos brotes históricos de FA

Cluster 5: Tamaño de rebaño elevado

Resultados por clúster

Cluster 6	v.test	Mean in category	Overall mean
farms	2.46	2,166.70	1326.37
herd.size	-3.40	6.15	13.74

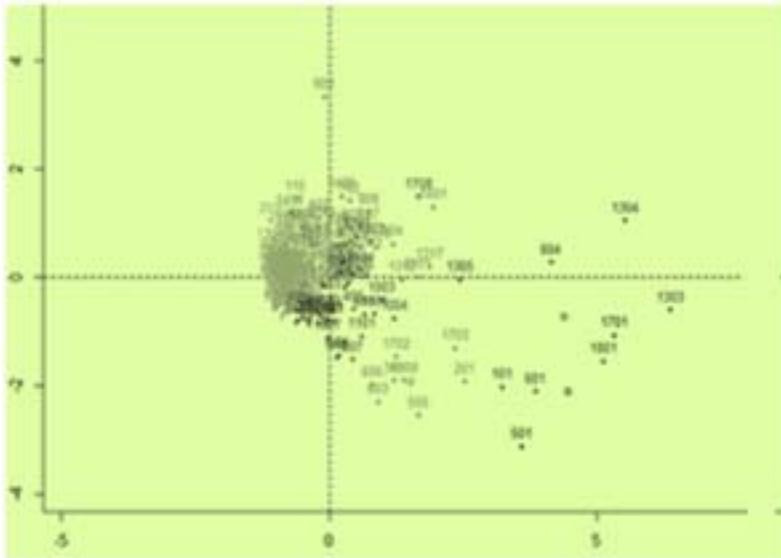
Cluster 7	v.test	Mean in category	Overall mean
herd.size	-2.25	11.96	13.74
freq.indegree	-3.22	287.79	832.87
fmd.outbreaks	-4.09	0.13	0.73
freq.outdegree	-5.26	219.66	835.39
bovines	-7.21	7,308.91	21039.86
farms	-7.38	435.78	1326.37

Cluster 7: Poco de todo y casi ausencia de brotes históricos de FA.

Cluster 8	v.test	Mean in category	Overall mean
herd.size	4.09	20.85	13.74
freq.outdegree	3.47	1,730.98	835.39
bovines	2.28	30,628.20	21039.86

Cluster 9	v.test	Mean in category	Overall mean
fmd.outbreaks	6.22	4.75	0.73

Cluster 9: Muchos brotes históricos de FA



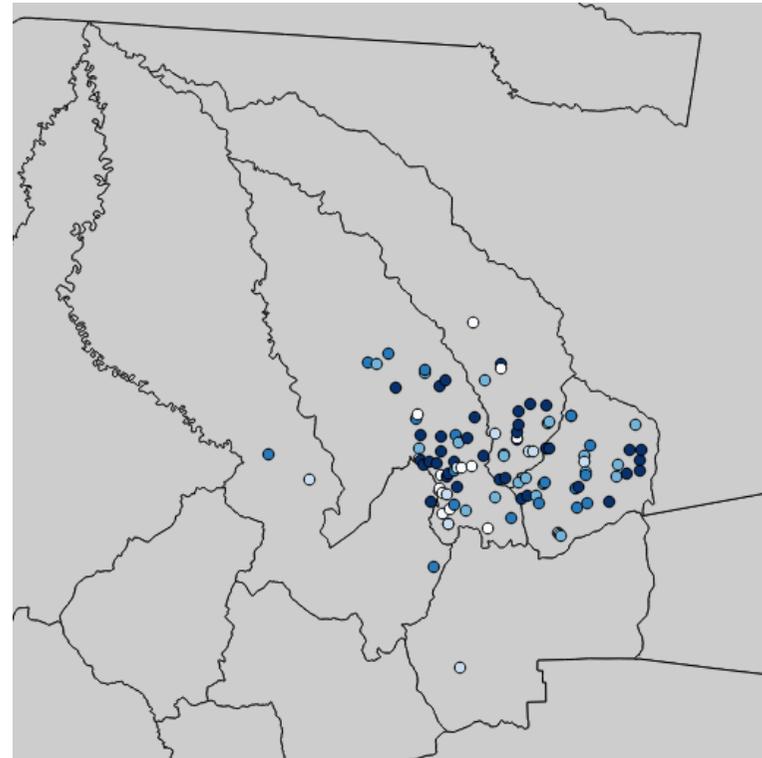
Los modelos multivariantes nos permiten agrupar nuestros tipos de predios por su similitud de nivel de riesgo, caracterización.

Sistemas de Información Geográfica



SIG

- Exploración de la **distribución de la población**
- Distribución de la **muestra**
- Distribución de la **inmunidad por densidad**
- Exploración de otros **componentes de interés epidemiológico**





Los Sistemas de Información Geográfica nos ayudan al diseño y análisis de los muestreos

Conclusiones

- Esta iniciativa **PANAFTOSA-CVP-BID** permite formar a los **técnicos** de los países en metodologías y herramientas de vigilancia que contribuyen a la toma de decisiones, y que no son sólo aplicables en el contexto de fiebre aftosa.
- La caracterización es **una herramienta útil a la hora de evaluar la distribución del riesgo de fiebre aftosa**, teniendo siempre en cuenta la situación de la zona o el país, endémica, de brotes esporádicos o libre.
- El incluir el **componente de inmunidad en la caracterización** ayuda a conducir la **vigilancia**, y también a **evaluar la estrategia de vacunación y su continuación**.

Reconocimientos

- Al equipo técnico de PANAFTOSA que participa en el Proyecto: [Alejandro Rivera](#), [Lia Buzanovsky](#), [Alexandre Santos](#), [Monica Martini](#)
- Resto del [equipo de soporte de PANAFTOSA](#)
- A [Hugo Fernández](#) de Liger (SENASA, Argentina), coordinador del Proyecto
- A los [servicios veterinarios de los países del CVP](#), en particular al [SENASAG](#)
- Al [BID](#)



www.paho.org/panaftosa



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

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