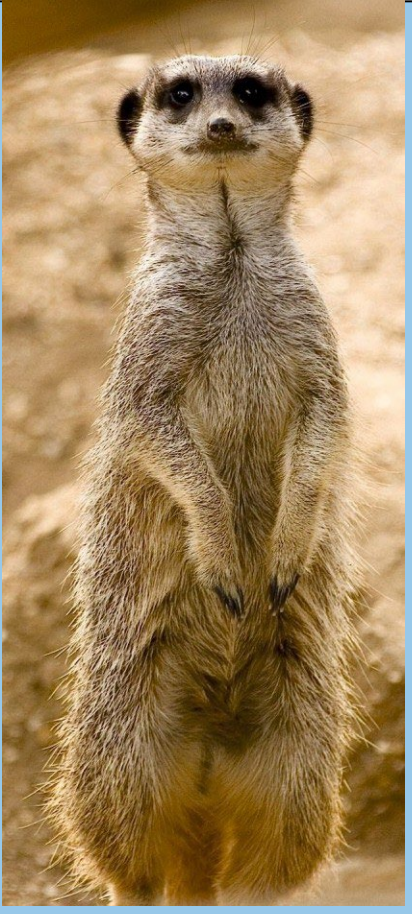


TALLER DE FORMACIÓN INVESTIGACIÓN DE BROTES DE ENFERMEDADES DE LA FAUNA SILVESTRE

Cuarto Ciclo

Taller para los puntos focales nacionales de la OIE para la Vida Silvestre

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro

Taller destinado a los Puntos Focales Nacionales de la OIE para la Fauna Silvestre

Cuarto Ciclo – Taller de Formación Investigación de Brotes de Enfermedades de la Fauna Silvestre

Contents

I. Investigación de Brotes 4

1. Formas de vigilancia de patógenos y las enfermedades 5
2. Componentes de un programa de vigilancia general de los patógenos de los animales silvestres 5
   a. Detección de patógenos y enfermedades 6
   b. Identificación de patógenos y enfermedades 6

II. Investigación de Brotes de Enfermedades de la Fauna Silvestre 8

1. Revisión: ¿Qué es un brote? 10
2. Investigación de Brotes 11
   a. Determinar la existencia de un brote 12
   b. Confirmación del diagnóstico 13
   c. Definición del caso 13
   d. Epidemiología Descriptiva 14
   e. Formulación de Hipótesis 15
   f. Epidemiología Analítica 15
   g. Medidas Preliminares de Prevención y Control 16
   h. Comunicación de los resultados 17
   i. Establecer la vigilancia/seguimiento de la enfermedad 18

III. Visualización De Datos 18

1. Finalidad 18
2. Google Earth 18
3. Punto Único 18
4. Proyecto R 29

IV. Equipo de Protección Personal (EPP) y Bioseguridad durante a Investigación sobre el Terreno de las Enfermedades de la Fauna Silvestre 35

1. Equipo de Protección Personal 35
   a. Opciones de Equipos de Protección Personal en los estudios de campo 35
   b. Contacto 37
   c. Aerosoles 37
   d. Vectores 38
   e. Vacunas de preexposición 38
2. Bioseguridad 39
3. Bioprotección 40
4. Puesto de Bioseguridad 40

V. Pruebas de Diagnóstico 40

1. Objetivo 40
2. Información Auxiliar 41
3. Validación de las Pruebas de Diagnóstico 41
4. Objetivo de la prueba 42
5. Características de las pruebas de Diagnóstico 43
6. Calidad de las Muestras 49
7. Disponibilidad de las pruebas 49
8. Recursos Necesarios 50

9. Mandatos legales 50
10. Ejemplos 50

VI. Diseño de los Estudios 51

1. Propósito 51
2. Objetivos 52
3. Diseño del muestreo 52

a. Métrica 52
b. Tamaño de la muestra- Ejemplares Individuales- Único Sitio 53
c. Muestreo de Unidades Geográficas 54

VII. Consideraciones Varias 59

VIII. Recursos Adicionales 59

IX. Ejercicios 60

I. Investigación de Brotes

La vigilancia, la prevención y el control de las enfermedades animales es un desafío mundial: la creación de un sistema mundial, regional y nacional de sanidad animal es un bien público global y una prioridad. Nuestro mundo está experimentando cambios sin precedentes, que tienden a amplificar los riesgos sanitarios emergentes y reemergentes para los animales y las personas.

- Organización Mundial de Sanidad Animal

La vigilancia de los patógenos de los animales salvajes es esencial para la gestión de la sanidad animal

La vigilancia de los patógenos de los animales silvestres es el componente más importante de cualquier programa nacional de sanidad de los animales silvestres. La vigilancia se define como "las operaciones sistemáticas y continuas de recolección, comparación y análisis de datos zoosanitarios y la diseminación de información en tiempo oportuno para la toma de medidas" (Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE. Es esencial para todos los demás componentes (prevención, detección, análisis de riesgos, gestión). En lo que a los Puntos Focales de la OIE para la Fauna Salvaje respecta, es la actividad de mayor importancia ya que proporciona toda la información que el punto focal necesita para llevar a cabo su labor. Un país sólo podrá conocer qué patógenos están presentes en sus poblaciones de animales silvestres, en qué zonas geográficas y en qué especies huéspedes mediante la vigilancia de los patógenos de los animales silvestres. La vigilancia tiene por finalidad detectar las enfermedades nuevas y emergentes, y también puede medir la proporción de animales infectados de una población (la prevalencia de la enfermedad en la población). Toda esta información es necesaria para evaluar los riesgos sanitarios asociados al comercio internacional o al desplazamiento nacional de los animales silvestres, así como para responder a las obligaciones internacionales de declaración de enfermedades. La vigilancia precisa asimismo de un sistema organizado de observación de los animales silvestres sobre el terreno, laboratorios de diagnóstico veterinario, sistemas de gestión de la información y redes de comunicación, elementos todos ellos igualmente necesarios cuando un país decide responder a un brote infeccioso y tomar medidas de gestión. Por lo tanto, la vigilancia de las enfermedades de los animales salvajes contribuye a la capacidad nacional que se requiere para gestionar los eventos zoosanitarios urgentes.

Los aspectos más destacados son:

1. Se trata de una actividad continua, una investigación y vigilancia incesante de los patógenos de los animales silvestres y las enfermedades que pueden causar;
2. La vigilancia no sólo implica la recopilación de información, sino también el análisis periódico de los datos recolectados con fines específicos; y
3. La vigilancia supone comunicar los resultados de la recopilación y del análisis de los datos a cuantas personas, entidades e instituciones los necesiten. De lo anterior, se desprenden los siguientes componentes de un programa de vigilancia:
   - detección de animales silvestres muertos o enfermos, toma de muestras de las poblaciones silvestres;
   - identificación de los patógenos y las enfermedades (diagnóstico, pruebas de laboratorio);
   - gestión de la información: registro informatizado de todos los datos reunidos;
   - análisis y comunicación de los datos: mapas, estadísticas, informes, análisis de riesgos, reuniones.

No se puede dejar de insistir en la importancia de la vigilancia de la fauna silvestre.

Por ejemplo, a través de la vigilancia general o pasiva se detectó inicialmente una nueva forma de gripe

aviar altamente patógena (IAAP) en Estados Unidos en diciembre de 2014. Esta detección se produjo en el Estado de Washington, y a través del análisis genético se determinó que era una nueva cepa asiática H5N8 (identificada como Clade 2.3.4.4). La detección se comunicó a nuestros socios a nivel nacional para proporcionar una alerta anticipada y mejorar la capacidad de seguimiento de la enfermedad en las especies agrícolas. La misma cepa (con idéntica estructura genética) se detectó en la República de Corea, y finalmente se notificó en China, Japón, Rusia y Europa.

1. Formas de vigilancia de patógenos y las enfermedades

El capítulo 1.4. del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE describe las numerosas facetas de la vigilancia zoosanitaria. Sin embargo, algunos aspectos de dicha vigilancia merecen especial atención en lo relativo a los animales silvestres. En las poblaciones silvestres, rara vez pueden emplearse los métodos de muestreo probabilísticos (Capítulo 1.4.4. del Código Sanitario para los Animales Terrestres) debido a problemas prácticos de acceso a estos animales y a la falta de información adecuada sobre el tamaño y la estructura de las poblaciones. Sin embargo, es posible llevar a cabo un muestreo probabilístico de las áreas geográficas que contienen animales salvajes cuando las muestras se recogen en una extensión espacial (véase la sección de Diseño de los Estudios en este documento). Por lo general, la mayoría de los muestreos para la vigilancia de los patógenos de la fauna silvestre serán aleatorios y se basarán en los elementos que puedan obtenerse, dadas las dificultades para garantizarse muestras de las poblaciones silvestres (a menudo llamadas "muestras de oportunidad"). Esto afectará a los enfoques analíticos que puedan aplicarse a los datos recabados mediante la vigilancia, así como a la naturaleza de las conclusiones que puedan sacarse de dichos datos, por lo que deben limitarse en la medida de los posible. No obstante, la vigilancia sigue constituyendo una poderosa herramienta y es indispensable para la gestión nacional e internacional de la sanidad animal y la salud humana, y, por ello, deberá aplicarse en todos los países.

Existen dos formas bastante diferentes de vigilancia de patógenos. La vigilancia general o "exploración sistemática" (en ocasiones llamada "vigilancia pasiva", aunque los programas de este tipo no tienen nada de "pasivos") y la vigilancia específica, centrada en un patógeno en particular en poblaciones de animales silvestres determinadas (también conocida como "vigilancia activa"). Ambas formas de vigilancia son necesarias en cualquier programa nacional de sanidad de los animales silvestres.

La vigilancia general o "exploración sistemática" de los patógenos de los animales silvestres es el componente más importante de cualquier programa nacional de sanidad de los animales silvestres. No será posible contar con un programa nacional de sanidad animal completo a menos que el país tenga asimismo un programa de vigilancia general de este tipo de patógenos. La vigilancia general constituye el único modo en que un país puede saber qué patógenos existen en su fauna silvestre, y la única manera disponible de vigilar a escala nacional las enfermedades emergentes asociadas a los patógenos de los animales silvestres.

2. Componentes de un programa de vigilancia general de los patógenos de los animales silvestres

Como se ha indicado anteriormente, la vigilancia de los patógenos de los animales silvestres consta de cuatro actividades, que deben estar estrechamente coordinadas entre sí en el marco de un programa de vigilancia integral. Cada uno de estos cuatro componentes implica a diferentes personas, con formaciones y experiencias distintas y, a menudo, de diferentes ámbitos gubernamentales, organizaciones no gubernamentales o universidades.

a. Detección de patógenos y enfermedades

La vigilancia general de los patógenos y las enfermedades de la fauna salvaje empieza, por lo general, con la detección de animales silvestres muertos o enfermos. La mayoría de los programas de vigilancia general de los patógenos de los animales silvestres se basa en el examen de los animales hallados sin vida; estos animales, por lo tanto, representan el recurso más valioso de cualquier programa de vigilancia. En consecuencia, el primer componente de un programa de vigilancia general de los patógenos de la fauna será la existencia de una red de personas que posiblemente vayan a encontrar animales silvestres muertos o enfermos. Esas personas u otras deberán estar preparadas para recoger a los animales silvestres muertos y transportarlos a un laboratorio de diagnóstico de enfermedades animales, o deberán ser formados para diseccionar a dichos animales sobre el terreno y enviar las muestras adecuadas al laboratorio. ¿Quién puede realizar esta tarea? Si bien la respuesta a esta pregunta puede variar entre países, para garantizar el éxito de un programa, será preciso contar con una red de personas que pasen tiempo en las áreas pobladas por animales silvestres y que estén informados sobre de la forma de declarar la existencia de especímenes muertos o enfermos a las autoridades responsables de asegurar que los especímenes sean enviados al laboratorio apropiado. Los programas responsables de la vigilancia de los patógenos de los animales silvestres deberán captar el interés y la cooperación de una amplia variedad de personas que pasan tiempo en los hábitats de los animales silvestres. Entre ellas se encuentran, en particular, a los funcionarios públicos y biólogos encargados de la fauna silvestre, normalmente vinculados a determinados ministerios, departamentos u organismos responsables de la gestión de los animales silvestres (a nivel nacional, provincial o regional). Estas personas deberán contar con el permiso y el respaldo de sus superiores para participar en el programa de vigilancia. Otros posibles partícipes pueden ser cazadores, pescadores, botánicos, científicos universitarios, organizaciones no gubernamentales de conservación de la naturaleza, y el público en general. Para conseguir su participación en el programa de vigilancia, deberá informarse periódicamente a esas personas sobre el programa, alentarlas a intervenir y recompensarlas por su contribución. Esas personas necesitarán asistencia; como acceso telefónico gratuito para poder ponerse en contacto con el personal del programa de vigilancia, sesiones de formación especiales y, a veces, también apoyo económico, y deberán recibir informes sobre los resultados del programa de vigilancia con el fin de mantener vivos su interés y colaboración. Los responsables del programa de vigilancia de los patógenos de los animales silvestres tendrán que dedicar anualmente tiempo y recursos para mantener y ayudar a esta red de personas comprometidas con la detección de animales muertos o enfermos y el transporte de los animales a los laboratorios. Es importante establecer un liderazgo en materia de bioseguridad y equipos de protección personal y manipulación de muestras cuando se presta asistencia al personal de vigilancia.

b. Identificación de patógenos y enfermedades

Una vez detectados animales muertos o enfermos, éstos deben examinarse para determinar las causas de su muerte o enfermedad y qué patógenos pueden portar. ¿Quién puede realizar esta tarea? Esta labor sólo puede llevarse a cabo por patólogos animales bien formados, en laboratorios de diagnóstico de enfermedades animales completamente equipados, en los que también trabajen expertos microbiólogos, biólogos moleculares, parasitólogos y toxicólogos. Los laboratorios deberán ser capaces de identificar una amplia gama de virus, bacterias, protozoos, hongos y metazoos infecciosos, así como de toxinas, y contaminantes y venenos ambientales. A menudo, esos laboratorios dependen de los ministerios, departamentos u organismos nacionales de agricultura, sanidad de los animales domésticos y servicios veterinarios y, por ende, los ministerios u

organismos responsables de la fauna silvestre y los encargados de los laboratorios de diagnóstico veterinario están llamados a colaborar estrechamente en cualquier programa de vigilancia de los patógenos de los animales silvestres, en caso de que dichas funciones estén separadas.

Oportunidad para revisar las opciones existentes para las estrategias de vigilancia de las enfermedades de la fauna silvestre

(Comprender las muestras y las técnicas que pueden utilizarse para la fauna silvestre)

1. Pregunta: ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de las diferentes técnicas y los desafíos únicos en relación con la vigilancia de las enfermedades de los animales salvajes?
2. Discusión: Considere los tipos de muestras o datos que pueden recogerse: cadáveres enteros, trampas vivas, muestreo de animales cazados, muestreo de animales muertos en la carretera, uso de especies indirectas, muestreo ambiental, encuestas con cuestionarios, vigilancia sindrómica, etc. Discutir las ventajas de cada tipo, incluyendo el acceso, el costo, los recursos necesarios para obtener muestras, la validez, etc.
3. Pregunta: ¿Existen ejemplos recientes de proyectos exitosos de vigilancia general y específica en curso o desarrollados recientemente?
4. Pregunta: ¿Puede explicar las razones por las que se utilizan determinados métodos de recopilación de muestras? ¿Existen limitaciones en el análisis en función de los tipos de muestras que se recogen?

Además, por favor, discuta la logística con el muestreo invasivo (sangre, muestras de órganos) y no invasivo (hisopos orales / nasales / cloacales / de la piel)

II. Investigación de Brotes de Enfermedades de la Fauna Silvestre

Tras la Conferencia Mundial de la OIE sobre la Fauna Salvaje (París, Francia, 23-25 de febrero de 2011) se presentaron varias recomendaciones para la investigación de los brotes. Estas se describen a continuación (Para más información, visite el sitio web de la OIE: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Conferences_Events/docs/pdf/recommendations/Recommendation_wild.pdf.

Considerando :

1. La emergencia y reemergencia de enfermedades transmisibles entre la fauna salvaje, los animales domésticos y los humanos,
2. El valor social, económico y ecológico de una fauna salvaje diversa y sana,
3. La importancia de la contribución de los servicios de biodiversidad y ecosistemas a la sanidad y la necesidad de promover la investigación y la expansión de conocimientos en sus interacciones,
4. La necesidad de aumentar la capacidad de todos los países del mundo para llevar a cabo procesos de vigilancia, detección precoz, y dar respuestas apropiadas a los brotes y a la propagación de las enfermedades en la fauna salvaje,
5. La responsabilidad fundamental de los Servicios Veterinarios y sus socios gubernamentales en proteger y mejorar la sanidad animal, incluyendo los aspectos relacionados con la fauna salvaje y la biodiversidad,
6. Que la OIE desarrolla y actualiza permanentemente las normas y los mecanismos destinados a facilitar el comercio como la zonificación libre de enfermedades, la compartimentación y el comercio seguro de productos de origen animal con el fin de armonizar las regulaciones nacionales que contribuyen a abordar la interfaz ecosistema entre la fauna salvaje y los animales domésticos,
7. Que las organizaciones responsables de dispensar sanidad pública, servicios veterinarios, fauna salvaje y medioambiental a nivel nacional e internacional deben organizarse en instituciones diferentes,
8. La gran necesidad de proteínas animales en la creciente población mundial,
9. Los cambios en el uso y gestión de tierras que podrían traducirse en nuevas interfaces entre humanos, animales domésticos y fauna salvaje, o bien su modificación, lo que favorecería la transmisión de enfermedades y la pérdida de la biodiversidad,
10. La necesidad de un compromiso multidisciplinario, así como la cooperación de las partes interesadas, incluyendo las organizaciones públicas y no gubernamentales, con el fin de obtener resultados beneficiosos mutuos a nivel de la interfaz fauna salvaje/animales domésticos y ecosistema humano,

Los participantes de la Conferencia Mundial de la OIE sobre la fauna salvaje recomiendan a la OIE:

1. Continuar desarrollando normas con fundamentos científicos para la detección, prevención y control de enfermedades, así como mecanismos de seguridad del comercio con el fin de armonizar las políticas relacionadas con los riesgos de enfermedades en la interfaz fauna salvaje, animales domésticos y humanos.

2. Continuar sosteniendo y actualizando los mecanismos de notificación de enfermedades en la fauna salvaje a través de los sistemas mundiales de notificación de la OIE WAHIS y WAHIS-Wild, sin dejar a un lado la reflexión minuciosa del posible impacto de dicha notificación por parte de los Miembros en el comercio de animales domésticos y sus productos derivados, y fomentar la promoción de la distribución de información a nivel internacional por medio de la plataforma GLEWS.
3. Dar asistencia a los Miembros para fortalecer sus Servicios Veterinarios con el fin de resguardar la sanidad animal, incluyendo los aspectos relacionados con la fauna salvaje y la biodiversidad utilizando, si es necesario, el Proceso PVS de la OIE.
4. Fomentar en los Delegados de la OIE el uso de sus puntos focales OIE en fauna salvaje para identificar sus necesidades para el desarrollo de capacidades a nivel nacional.
5. Dar apoyo a los Miembros en lo referente a las capacidades de acceso y uso de la adecuada pericia para la recolección de muestras y diagnóstico, así como de las herramientas aprobadas para la vigilancia y gestión de enfermedades en animales domésticos y salvajes.
6. Promover la investigación con el fin de ampliar las bases científicas destinadas a la protección de la biodiversidad y el medioambiente con el fin de favorecer la sanidad animal y la salud pública.
7. Favorecer la inclusión sistemática, en los programas de educación veterinaria, de la promoción, protección y mejoramiento de la sanidad y el bienestar animal, incluyendo aspectos relacionados con la fauna salvaje y la biodiversidad.
8. Explorar las oportunidades para mejorar la comunicación y el establecimiento de colaboraciones sólidas con las organizaciones públicas y privadas mundiales involucradas en labores sobre fauna salvaje y biodiversidad como la FAO[1], la OMS[2], el PNUMA[3], UICN[4], CIC[5], CITES[6], y demás Acuerdos medioambientales multilaterales de importancia y organizaciones internacionales con el objetivo de fortalecer el apoyo a las regulaciones existentes en materia de comercio de fauna salvaje y productos derivados, así como favorecer la necesidad de movilizar los recursos necesarios en esta área.
9. Continuar desarrollando y actualizando las estrategias y políticas de las OIE en materia de fauna salvaje y biodiversidad a través de las labores de la Comisión Científica y su Grupo de trabajo en enfermedades de la fauna salvaje, así como a través la red de Laboratorios de Referencia y Centros Colaboradores de la OIE.

Recomiendan a los miembros de la OIE:

1. Continuar implementando las normas y directrices internacionales para la prevención y el control de enfermedades, incluyendo las transmisibles en la fauna salvaje, los animales domésticos y los humanos.
2. Continuar implementando las normas y directrices internacionales que faciliten el carácter admisible y legal del comercio de animales salvajes y productos derivados, así como la

[1] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
[2] Organización Mundial de la Salud.
[3] Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
[4] Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.
[5] Consejo internacional para la conservación del juego y de la fauna.
[6] Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.

reducción del comercio ilegal de la fauna salvaje.

3. Notificar las enfermedades en la fauna salvaje a través de WAHIS y WAHIS-Wild, incluyendo en las instalaciones de cuarentena, reconociendo cuidadosamente cuando estas notificaciones no ocasionen impactos en el comercio de animales domésticos y sus productos con los socios comerciales de conformidad con las normas de la OIE sobre enfermedades pertinentes.
4. Garantizar que los Servicios Veterinarios nacionales y sus socios cumplan con sus responsabilidades en lo referente a la conservación de la biodiversidad, la sanidad y el bienestar animal al estar relacionadas con la fauna salvaje y el medioambiente, incluyendo las regulaciones y legislación apropiadas, y, de ser necesario, buscar asistencia a través del Proceso PVS de la OIE para mejorar sus servicios.
5. Designar y apoyar a los Puntos Focales nacionales de la OIE para fauna salvaje en sus labores y fomentar su colaboración con las agencias y organizaciones aliadas.
6. Buscar y aplicar la adecuada pericia para la recolección de muestras y diagnóstico, así como las herramientas de gestión de enfermedades aprobadas para las enfermedades de la fauna salvaje, incluso con la participación de los veterinarios privados, médicos, trabajadores comunitarios, pescadores, cazadores, guardabosques y demás partes interesadas.
7. Apoyar la investigación para ampliar las bases científicas para la protección de la biodiversidad y el medioambiente con el fin de promover la sanidad animal y la salud pública.
8. Apoyar la inclusión sistemática, en los programas de educación veterinaria, de la promoción, protección y mejoramiento de la sanidad y el bienestar animal, incluyendo aspectos relacionados con la fauna salvaje y la biodiversidad.
9. Motivar a los componentes públicos y privados de los Servicios Veterinarios a participar activamente en la promoción de la biodiversidad y la protección de la fauna salvaje.
10. Promover la comunicación y la colaboración eficaz a nivel nacional y regional entre las diferentes estructuras gubernamentales que comparten responsabilidades en el ámbito medioambiental y de la sanidad de la fauna salvaje, el ganado y pública.
11. Explorar y promover las oportunidades para comunicar, colaborar y crear alianzas con las organizaciones públicas y privadas interesadas en la gestión de la fauna salvaje y la biodiversidad, incluyendo la industria del turismo, veterinarios privados y médicos, gerentes de parques naturales y zoológicos, guardabosques, cazadores, pescadores, asociaciones conservacionistas, comunidades indígenas locales y partes interesadas.
12. Promover la adopción de la legislación para aclarar o definir el dominio de la fauna salvaje por los pueblos y organizaciones.

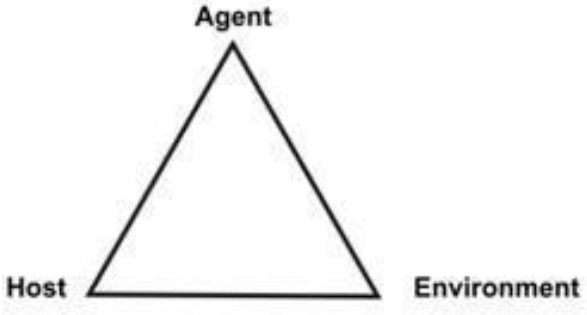
1. Revisión: ¿Qué es un brote?

- OIE: La aparición de uno o más casos en una unidad epidemiológica.
- Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC): Aumento del número de casos de la enfermedad por encima del número "esperado" en un lugar o periodo de tiempo determinado.
- En las enfermedades raras, un caso puede considerarse un brote.
- Algunas enfermedades de notificación obligatoria, altamente contagiosas o perjudiciales pueden justificar una investigación por parte de la ley.

Diferentes tipos de brotes

1. Población definida, pero patógeno desconocido. Se puede descubrir una fuente de exposición común.
2. Patógeno definido, pero población desconocida. Se debe utilizar el enfoque de estudio de control de casos y los mejores indicios para la exposición pueden ser la distribución demográfica de los casos.
3. Patógeno definido en una población conocida. Se debe buscar la fuente... y las exposiciones posteriores (rastros).
4. Población y patógeno desconocidos. Un grupo de casos sindrómicos en una zona geográfica amplia. Estos pueden estar relacionados o no.

Una enfermedad emergente designa un nuevo patógeno que resulta de la evolución o modificación de un agente patógeno o parásito existente que da lugar a un cambio de huésped, vector, patogenicidad o cepa, o la aparición de un patógeno no identificado anteriormente. Cuando un agente patógeno aparece por primera vez en una nueva zona geográfica o nuevo huésped, puede considerarse una enfermedad emergente. La globalización, el cambio de los patrones climáticos y el aumento de la velocidad y el volumen del transporte internacional de animales, así como de personas, son factores conocidos que podrían favorecer la propagación de patógenos y la aparición de enfermedades.



A modo de repaso: Los factores que se deben tener en cuenta al investigar una enfermedad infecciosa emergente están representados en la tríada epidemiológica:

Si bien en lo que resta de esta parte del manual de formación se centrará en la preparación y la respuesta a un brote de enfermedad infecciosa, es conveniente recordar que un evento de mortalidad de la fauna silvestre puede ser causado por varios tipos de agentes infecciosos (virales, bacterianos, fúngicos, parasitarios o priones) o podrían ser causados por biotoxinas (toxinas de algas, micotoxinas, botulismo aviar), toxinas químicas (petróleo, plomo, mercurio, cianuro, sal, compuestos organofosforados, insecticidas, pesticidas, etc.) o por electrocución, cambios climáticos intensos o traumatismos.

Planificación de la respuesta: La planificación eficaz para hacer frente a los brotes de enfermedades de la fauna silvestre requiere una comprensión de las operaciones de control de enfermedades y de los recursos básicos necesarios para dicha tarea, como el personal, el equipo, los suministros y los permisos.

2. Investigación de Brotes

El objetivo de revisar y familiarizar a los equipos de trabajo con los pasos a seguir en la investigación de un brote es garantizar la preparación de dicho equipo para responder a un brote real. Se puede utilizar un ejercicio de simulación junto con esta visión general para reforzar la toma de conciencia de los veterinarios

y los profesionales de la fauna salvaje sobre los riesgos, la importancia de la detección temprana y las medidas de contingencia durante un brote, mejorar el conocimiento de las estrategias de muestreo, vigilancia y seguimiento, discutir los métodos de control y prevención, y revisar los pasos de la investigación epidemiológica. Por lo general, una investigación de un brote epidemiológico se caracteriza por los siguientes pasos:

a. Determinar la existencia de un brote.
b. Confirmación del diagnóstico.
c. Definición del caso.
d. Epidemiología descriptiva.
e. Formulación de hipótesis.
f. Análisis epidemiológico.
g. Medidas preliminares de prevención y control.
h. Comunicación de los resultados.
i. Establecer la vigilancia/seguimiento de la enfermedad.

Aunque estos pasos se enumeran en un orden lógico y secuencial, es importante entender que en realidad pueden darse de forma simultánea. La confirmación del diagnóstico puede producirse al mismo tiempo que la definición del caso. Mientras se lleva a cabo la investigación epidemiológica, es muy probable que se adopten medidas preliminares de control y prevención. Es fundamental que la comunicación con el personal, los laboratorios, los funcionarios del gobierno y otras partes interesadas y socios se lleve a cabo durante y después del brote. Algunos de estos pasos pueden requerir acciones y ajustes continuos (la comunicación y el control suelen ser pasos continuos y dinámicos durante la investigación de un brote).

a. Determinar la existencia de un brote

Debido a la gran cantidad de recursos que pueden ser necesarios para una investigación adecuada de un brote, es imperativo determinar la existencia de un brote. Hay ejemplos de entidades estatales y federales que informaron la detección de una epidemia, pero que con el tiempo resultó ser una "falsa alarma" causada por un cambio de personal de laboratorio que identificó erróneamente un agente infeccioso, un cambio en los umbrales de notificación, un cambio en los protocolos de pruebas de diagnóstico o un sesgo en la notificación que ha llevado a un exceso de notificación de casos en una región geográfica determinada. Es importante comparar los datos históricos para determinar si un acontecimiento no se encuentra dentro de los parámetros esperados. Si bien puede ser necesario responder y tener “los pies sobre el terreno” para determinar si efectivamente se está produciendo un brote, este paso no debe omitirse antes de llevar a cabo el despliegue de un gran número de personal, el movimiento de cualquier equipo, etc. También es importante tener en cuenta que, incluso en un caso confirmado de mortalidad de animales salvajes, la enfermedad infecciosa puede no ser la única causa posible. Un acontecimiento tóxico (natural o intencionado), un traumatismo, un episodio climático severo, o una electrocución pueden ser también causas de eventos de mortalidad a gran escala, o

bien el evento puede deberse a múltiples factores.

Wildlife

Blackbirds down

Jan 5th 2011, 16:28 BY THE ECONOMIST ONLINE Timekeeper Like 543 Tweet

Incidents of mass wildlife mortality are quite common

THREE thousand blackbirds fell from the sky in the American state of Arkansas on New Year's Eve. The cause has not yet been determined but preliminary laboratory tests revealed acute physical trauma. Fireworks may have been to blame. While the incident was alarming, it is not unprecedented, according to America's National Wildlife Health Centre which monitors wildlife mortality events across America. One of the biggest such events occurred in 1986, when 30,000 Ohioan blackbirds and starlings were poisoned over a period of eight days. Our chart shows the incidents that caused the most wildlife fatalities in 2010.

b. Confirmación del diagnóstico

Para determinar la causa de la muerte será necesaria la confirmación del laboratorio. Muchos brotes son causados por agentes infecciosos previamente conocidos que se trasladan a nuevos huéspedes, a nuevas áreas geográficas o tienen una mutación de la cepa que causa una mayor virulencia y puede conducir a la muerte. En algunos casos, el brote de una enfermedad de la fauna salvaje puede deberse a un agente previamente desconocido, y será necesario investigar para descubrir, caracterizar y nombrar el agente causante. Por ejemplo, el síndrome de la nariz blanca (WNS) provocado por el hongo *Pseudogymnoascus destructans* es una enfermedad emergente en Estados Unidos. Aunque se desconocía el agente inicial y la causa de la muerte, se llevó a cabo una investigación del brote para evaluar el alcance de la enfermedad y las especies afectadas. Tras un extenso trabajo de diagnóstico, se aisló finalmente el hongo causante.

La detección temprana y la evaluación rápida y precisa de las causas de los brotes de enfermedades son esenciales para la eficacia de las operaciones de control de enfermedades. Para poder identificar el problema de forma temprana, se debe enviar los ejemplares adecuados a un laboratorio de diagnóstico cualificado lo antes posible y es fundamental comunicarse previamente con el laboratorio.

c. Definición del caso

¿Qué datos se deben conocer para establecer la definición de un caso? (Véanse las directrices de la OIE y las definiciones de caso establecidas para las enfermedades conocidas de los animales salvajes)

1. Población
2. Lugar
3. Marco temporal

4. Distribución/ límites geográficos
5. Signos clínicos
6. Confirmación del laboratorio (caso confirmado, sospechoso o probable)

Enlaces a ejemplos de definiciones de casos disponibles del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicios Veterinarios, Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal:

- Encefalitis Equina Oriental: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/downloads/animal_diseases/eee-case-definition.pdf
- Virus del Nilo Occidental: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/downloads/animal_diseases/wnv-case-definition.pdf
- Enfermedad Entérica por Coronavirus Porcino (SECD) incluido el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV): https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/swine/downloads/secd_case_definition.pdf

d. Epidemiología Descriptiva

La epidemiología descriptiva pretende proporcionar información sobre la frecuencia y la distribución de las enfermedades. No hay ninguna hipótesis preconcebida cuando se realizan estudios epidemiológicos descriptivos; éstos buscan determinar la extensión del brote:

1. Quién (¿qué población se encuentra afectada?)
2. Qué (¿es el resultado de una causa infecciosa o algo más?)
3. Dónde (extensión geográfica del problema)
4. Cuándo (¿periodo de tiempo del suceso? ¿sigue ocurriendo?)

Los estudios epidemiológicos descriptivos se utilizan al principio de un brote para tratar de determinar los factores de riesgo iniciales que ayuden a los investigadores a formular las primeras hipótesis. Suelen ser estudios rápidos, que requieren menos tiempo y recursos que los estudios analíticos más complicados. Los estudios descriptivos no generan una cuantificación del riesgo o de las probabilidades; no establecen factores causales. Muchos libros de texto de epidemiología cubren los fundamentos de la epidemiología descriptiva, por lo que no entraremos en detalles sobre este tema. En resumen:

1. Estudios de correlación (ecológicos): recogen datos a nivel de población, con el objetivo de mostrar la correlación entre dos factores. Este estudio producirá una puntuación R, que varía entre -1 y +1.
2. Informes de casos: Informe de un solo caso de una enfermedad o infección nueva/interesante/no notificada. Sirve de interfaz entre los hallazgos diagnósticos o clínicos y la epidemiología.
3. Series de casos: Informa de los datos agrupados de múltiples casos con un mismo diagnóstico o similar. Las series de casos pueden ayudar a los investigadores a formular una hipótesis sobre los

factores causales y de riesgo, pero una serie de casos no establece ningún riesgo estadístico

4. Encuesta por cuestionario: Las encuestas por cuestionario pueden utilizarse para determinar la frecuencia de la enfermedad con los factores relacionados en un momento dado. Pueden repetirse para controlar los cambios en la prevalencia. Las secciones transversales de la población pueden medirse en sus diferencias de exposición. Los resultados pueden revelar diferencias en la edad, la exposición, la estacionalidad, la geografía o las especies.

e. Formulación de Hipótesis

Tras la epidemiología descriptiva (que se utiliza al principio de un brote para identificar otras áreas de investigación), el equipo de campo debería tener algunos factores de riesgo que pueden merecer una investigación más profunda. Los datos clínicos y de laboratorio pueden proporcionar información si un agente infeccioso es el responsable del evento de mortalidad de la fauna salvaje. Es importante combinar los resultados de laboratorio con la patología conocida del agente, la información sobre el periodo de incubación, cualquier reservorio conocido de la enfermedad, las posibles fuentes de la infección, las vías de transmisión y el cuadro clínico/la presentación clásica de la enfermedad.

Por ejemplo, a raíz de una investigación epidemiológica descriptiva de un brote de rabia en lobos etíopes (*Canis simensis*), los epidemiólogos formularon la hipótesis de que los lobos en contacto directo con perros domésticos (*Canis lupus familiaris*) corren un mayor riesgo de contraer la rabia en comparación con los lobos que no tienen contacto. Esta hipótesis sobre la variabilidad de las tasas de contacto puede comprobarse mediante los enfoques epidemiológicos analíticos que se describen a continuación.

f. Epidemiología Analítica

A diferencia de la epidemiología descriptiva, la epidemiología analítica es más profunda y pretende validar o descartar una hipótesis. En el caso de algunos brotes, la epidemiología descriptiva apunta rápidamente a una fuente de infección concreta, y puede ser innecesario realizar más análisis. Sin embargo, en algunos sucesos en la fauna salvaje, o en sucesos que pueden afectar a la fauna salvaje y a los animales domésticos o a los seres humanos, la fuente puede no ser clara y debe utilizarse la epidemiología analítica para probar formalmente la hipótesis.

En la epidemiología analítica se pueden utilizar tres diseños de estudio generales:

1. Estudio transversal: mide la exposición y el resultado al mismo tiempo, y determina la relación entre los grupos. Esta medida se utiliza con frecuencia en las investigaciones sobre la vida silvestre, pero no puede utilizarse para determinar los factores causales.
2. Estudios caso-control: Este tipo de estudio comienza con la identificación de grupos de individuos que tienen la enfermedad (casos) frente a un grupo de individuos sin la enfermedad (controles) y ambos se investigan de forma retroactiva para comparar las exposiciones previas. En el caso de la fauna salvaje, es difícil obtener información sobre la exposición previa, por lo que los estudios de casos y controles son complicados y a menudo inexactos. Los biólogos de la fauna salvaje pueden utilizar los factores de estudio en las condiciones actuales como una aproximación a las condiciones existentes al momento del brote.
3. Estudios de Cohortes: Este tipo de estudio compara 2 poblaciones de cohorte (expuestas y no expuestas) y sigue a esos grupos en el tiempo para comparar el desarrollo (incidencia) de la enfermedad.

En nuestro ejemplo del brote de rabia en los lobos etíopes, podríamos utilizar un estudio de cohortes para investigar el papel que pueden tener las interacciones con los perros domésticos en el riesgo de infección por rabia. Esto podría implicar el seguimiento de los movimientos y el estado de infección por rabia de los cachorros de lobo a lo largo del tiempo, y la estimación de su uso de las regiones ocupadas por el hombre con grandes poblaciones de perros domésticos. Esto permitiría estimar la incidencia de la infección por rabia en relación con las tasas de contacto con los perros domésticos.

g. Medidas Preliminares de Prevención y Control

El control de las enfermedades en la fauna salvaje representa un desafío, y las acciones pueden no tener el mismo impacto o viabilidad que se esperaría en un brote de enfermedad de animales domésticos. Los mecanismos de control pueden incluir: alterar la vía o la probabilidad de transmisión interrumpiendo la cadena de infectividad. Retomando la tríada epidemiológica o de transmisión por vectores, para una estrategia de control se debe alterar la población huésped, el agente, el entorno o el vector.

Los animales salvajes que han muerto por la enfermedad suelen ser una fuente primaria del agente patógeno, y en la mayoría de las situaciones sus cadáveres deben ser retirados del entorno para evitar la transmisión de la enfermedad a otros animales por contacto o consumo del cadáver infectado. La retirada de los cadáveres debe planificarse para evitar la contaminación mecánica de las zonas circundantes. Además, es necesario contar con un plan de eliminación de los cadáveres que sea logísticamente viable antes de su traslado. El objetivo principal de la eliminación de los animales muertos es evitar la propagación del agente patógeno a otros animales a través de la contaminación ambiental. La incineración, inhumación, la transformación industrial de desperdicios cárnicos y la elaboración de compost son cuatro opciones viables para la eliminación de los cadáveres.

Además de retirar los animales muertos o enfermos de la zona, también puede ser necesario proteger a los animales vivos y aparentemente sanos durante las actividades de control de la enfermedad. Dependiendo de las circunstancias en las que se haya producido el brote, considere la posibilidad de impedir el uso de lugares específicos por parte de los animales dispersándolos del área problemática, concentrando y reteniendo a los animales salvajes dentro de un área específica o capturando a los animales para el muestreo. Los dispositivos para ahuyentar (explosores de propano o cartuchos para espantar) pueden ser útiles para mantener a la fauna silvestre alejada de un evento tóxico o infeccioso. Engañar a los animales con aviones, helicópteros, hidrodeslizadores, motos de nieve u otros equipos motorizados pueden ser eficaces para alejar a la fauna silvestre de las zonas que presentan problemas de enfermedades. También se deben considerar los métodos de concentración, como atraer a la fauna salvaje a una zona con comida o agua. Se puede considerar la traslocación de los animales para sacarlos de una región peligrosa mientras se llevan a cabo los esfuerzos de retirada, eliminación y desinfección de los cadáveres.

El objetivo de la desinfección es evitar la transmisión de agentes infecciosos de un lugar a otro a través de personas, equipos y suministros. Algunos virus, bacterias y otros agentes infecciosos tienen una persistencia ambiental significativa. Las enfermedades causadas por priones (la caquexia crónica, el prurigo lumbar y la encefalopatía espongiforme bovina) se encuentran entre las más difíciles de desinfectar; en la actualidad se siguen estudiando las opciones de descontaminación ambiental en zonas que se sabe que han sido infectadas por priones. Se debe consultar a los especialistas en control de enfermedades para determinar las mejores opciones para la desinfección de un sitio luego de un brote. La desinfección del entorno local implicado en un brote de la enfermedad puede ser necesaria para evitar la reaparición de la enfermedad cuando el lugar sea utilizado por otros animales.

El control de insectos puede ser una opción en las regiones donde las enfermedades transmitidas por vectores son una preocupación. Además, en el caso de las enfermedades con consecuencias graves, se puede considerar la posibilidad de aplicar tratamientos o medidas de prevención que afecten al huésped susceptible (por ejemplo, la vacuna oral contra la rabia).

Es posible que el comportamiento humano también tenga que cambiar para tener éxito en la investigación y el control de los brotes. Limitar el acceso a determinadas zonas (por ejemplo, cuarentena), evitar el transporte accidental de agentes desde una zona infectada a otra zona no infectada y evitar que los seres humanos (por ejemplo, los investigadores) actúen como vectores. Un ejemplo de ello es el cierre de cuevas en zonas de interés para evitar la introducción y el movimiento del agente causante del síndrome de la nariz blanca.

h. Comunicación de los resultados

La importancia de la comunicación es fundamental. En el caso de una enfermedad agro cultural o zoonótica, o si existe algún riesgo para la seguridad alimentaria se debe informar a los funcionarios de agricultura o salud pública. Los funcionarios de medio ambiente deben ser contactados en caso de un producto químico tóxico u otro contaminante ambiental. La información que se ponga a disposición del público debe ser rápida, precisa y redactada en una jerga no científica.

A continuación, se enumeran las recomendaciones para comunicar con éxito al público en caso de un evento de mortalidad a gran escala (tomados del material del curso de Comunicación de Riesgos durante Crisis y Emergencias de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades):

- Sea el primero. De información correcta. Sea creíble.
- Establezca confianza y credibilidad al expresar empatía y comprensión, competencia, capacidad, honestidad, franqueza, compromiso y dedicación. Por ejemplo; "A nosotros también nos ha afectado el descubrimiento de la manada de antílopes. Es algo difícil de ver. Nos comprometemos a averiguar la causa de su muerte".
- No infunda más tranquilidad de la necesaria. Es importante dar solo la información disponible al momento.
- Explique el proceso que se está siguiendo para encontrar respuestas. Por ejemplo: "Tenemos 3 equipos de expertos trabajando para determinar la causa de la muerte en esta región. Estamos trabajando con funcionarios universitarios, policiales e internacionales".

Debido a las diferencias en las estructuras gubernamentales, la responsabilidad de la gestión de los agentes patógenos y las enfermedades de los animales salvajes no suele estar claramente asignada. Algunos agentes patógenos pueden ser competencia del Ministerio de Sanidad, mientras que otros pueden serlo del Ministerio de Agricultura y Servicios Veterinarios. La responsabilidad de la gestión de las poblaciones de animales salvajes puede recaer con frecuencia en los Ministerios de Medio Ambiente, Silvicultura o Pesca. Puede haber confusión en cuanto a qué rama o ramas del gobierno deben ser responsables de la investigación, respuesta y comunicación de los brotes. A menudo, los programas exitosos se logran mediante colaboraciones interministeriales o interdepartamentales que acuerdan los objetivos y definen las funciones y la responsabilidad de cada entidad. En concreto, pueden ser útiles las estructuras de gobernanza preestablecidas y los planes de respuesta para gestionar los brotes. Durante el intenso periodo de respuesta a un brote, es de esperar que exista una comunicación diaria entre los organismos implicados. Se recomienda que estas funciones y responsabilidades se establezcan mucho antes de que se produzca un brote, y que los puntos de contacto (POC) se conozcan y sean accesibles para facilitar la comunicación.

i. Establecer la vigilancia/seguimiento de la enfermedad

A medida que va concluyendo la investigación del brote, se deberá determinar los planes para la vigilancia y el seguimiento continuos de la enfermedad. Como los recursos tienden a ser limitados y hay que pensar cuidadosamente en el uso de los mismos, considere las siguientes preguntas:

- ¿Qué trabajos continuarán en la siguiente fase?
- ¿Cómo se llevará a cabo el control de la enfermedad?
- ¿Como se va a diseñar y poner en marcha el plan de vigilancia?
- ¿Qué herramientas y recursos adicionales se necesitan?

III. Visualización De Datos

1. Finalidad

Durante las investigaciones de los brotes, por lo general es importante poder mostrar la ubicación geográfica del brote o brotes. Esta información puede utilizarse para comunicarse con otras jurisdicciones, organismos y partes interesadas a fin de promover la toma de conciencia sobre la situación, evaluar el riesgo para los recursos valiosos y la salud pública, controlar la propagación y evaluar las opciones de gestión. La visualización de datos puede ser tan simple como colocar un punto en un mapa, o tan compleja como desarrollar un proyecto de Sistemas de Información Geográfica (SIG) para el brote. La elección de la plataforma de visualización de datos depende en gran medida de los recursos disponibles, el tipo y la gravedad del riesgo asociado al brote, y los objetivos generales de la investigación. Demostraremos técnicas sencillas de visualización de datos utilizando software de código abierto fácilmente disponible que puede ser utilizado por cualquiera. Además, proporcionaremos recursos e información para aplicaciones de SIG más detalladas; sin embargo, este curso de formación no pretende cubrir estas aplicaciones en detalle.

2. Google Earth

Comenzaremos demostrando cómo utilizar Google Earth Pro para crear mapas de ubicaciones de brotes conocidos. Google Earth Pro es un paquete de software disponible gratuitamente que se utiliza para una gran variedad de aplicaciones, y puede descargarse en la siguiente dirección: https://www.google.com/earth/about/versions/#download-pro.

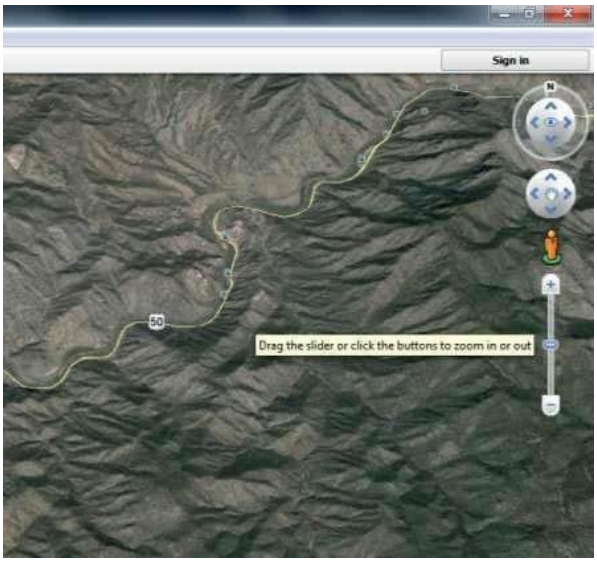
Se necesita una dirección de correo electrónico y la siguiente clave GEPFREE para utilizar este software tras su instalación.

3. Punto Único

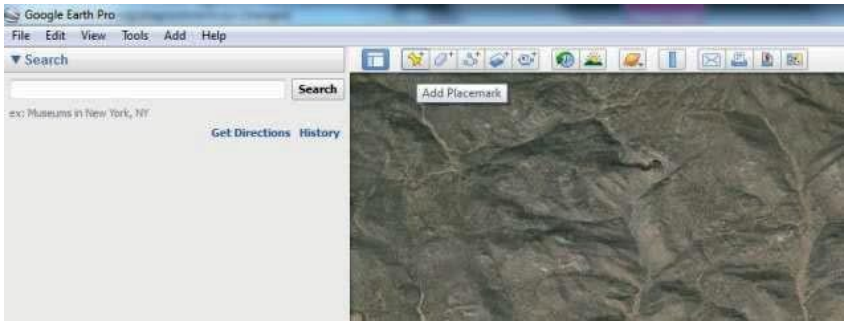
Comenzaremos demostrando cómo colocar un único punto (es decir, una única ubicación de brotes) en el mapa utilizando las siguientes instrucciones paso a paso:

1. Abra Google Earth Pro haciendo clic en el icono.

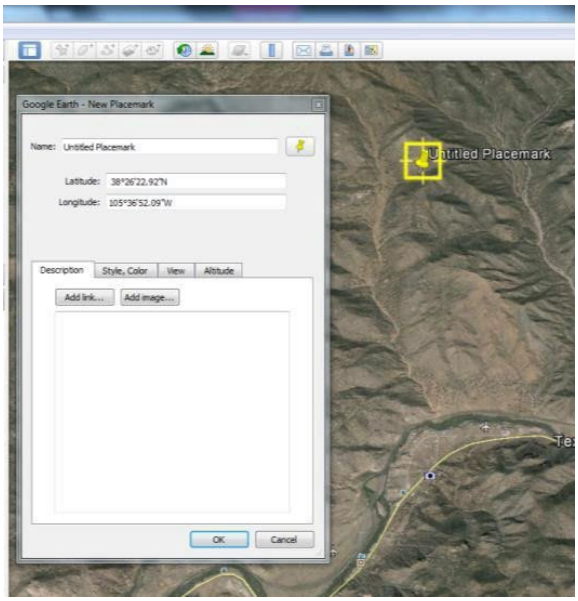
2. Utiliza el mouse para navegar hasta la ubicación deseada en el globo terráqueo. Puede acercar el zoom en la ubicación deseada utilizando el control deslizante en la parte superior derecha de la pantalla.



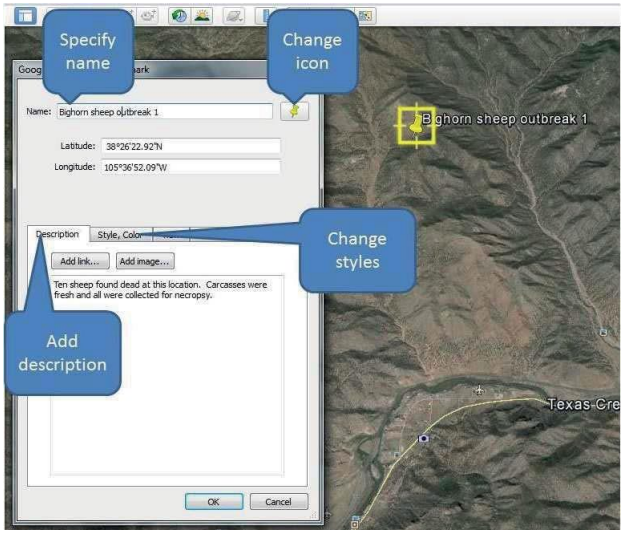
3. Una vez que haya navegado hasta la ubicación del brote, se debe colocar un marcador en ese lugar. Vaya a la parte superior de la "ventana del mapa" y haga clic en el pin amarillo o en el botón de añadir marca de posición.



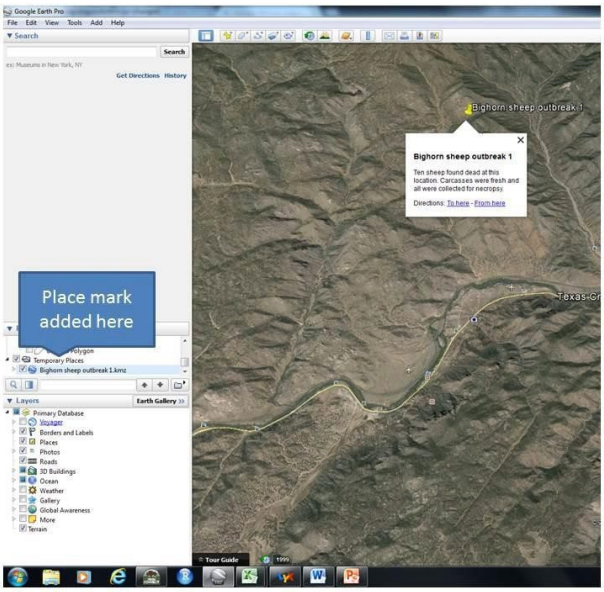
- Esto creará un cuadro amarillo parpadeante alrededor de un nuevo marcador de posición. Este nuevo marcador puede moverse a una ubicación precisa haciendo clic y manteniendo pulsado el botón izquierdo del mouse, y luego arrastrando el marcador de posición a la ubicación deseada. Una vez que esté en la ubicación, suelte el botón. Además, aparece un cuadro de diálogo que permite vincular el marcador de posición con información útil.



- Puede elegir el icono que va a utilizar para su marcador de posición haciendo clic en el icono "alfiler (*push pin*)" en la esquina superior derecha del cuadro de diálogo. Puede nombrar su marcador de posición haciendo clic en el cuadro de texto que sigue a "Nombre" dentro del cuadro de diálogo, y escribiendo un nombre informativo (por ejemplo, Brote de borrego cimarrón 1). Si desea añadir información descriptiva adicional, vaya a la pestaña "Descripción:" del cuadro de diálogo. Haga clic en el cuadro de texto de esta pestaña y añada la información que desee. Puede cambiar el estilo y el color de su icono y su etiqueta asociada haciendo clic en la pestaña "Estilo, color" del cuadro de diálogo. Por último, hay otras opciones relacionadas con la apariencia y la cartografía en las pestañas adicionales del cuadro de diálogo.



- Cuando haya finalizado, haga clic en el botón “Aceptar” que se encuentra al final del cuadro de diálogo.
- Ahora puede hacer clic en el marcador de posición y se mostrará la descripción asociada que ha introducido. Si desea editar el contenido de la descripción, cambiar el nombre o el estilo, etc., simplemente, haga clic con el botón derecho del mouse en el icono del marcador de posición. Se abrirá el cuadro de diálogo descrito anteriormente y se podrán realizar las modificaciones necesarias.
- Ahora supongamos que quiere compartir este archivo con sus colegas o con las partes interesadas. Guarde el archivo accediendo al menú Archivo en la parte superior izquierda de la pantalla. Desplácese hasta "Guardar: y haga clic. Hay varias opciones disponibles. Puede guardar el archivo como una imagen, o puede "Guardar lugar como” en un formato de archivo compartible. Vamos a elegir esta última opción haciendo clic en "Guardar lugar como". Introducimos un nombre para nuestro archivo en el cuadro de diálogo emergente. Los archivos pueden guardarse en formato .kmz (archivo comprimido similar a winzip y que incluirá cualquier superposición de imágenes, etc.) o en .kml (formato de archivo de Google Earth, sin comprimir). Guardaremos el archivo como brote1.kmz.
- Ahora puede enviar este archivo a cualquier persona con acceso a Google Earth. Se puede abrir el archivo yendo al menú Archivo en la parte superior izquierda de la pantalla, y eligiendo Abrir. Esto les permitirá "buscar" la ubicación del archivo deseado en su computadora haciendo clic en el archivo, y éste se añadirá a sus "Lugares: en la parte izquierda de la pantalla.



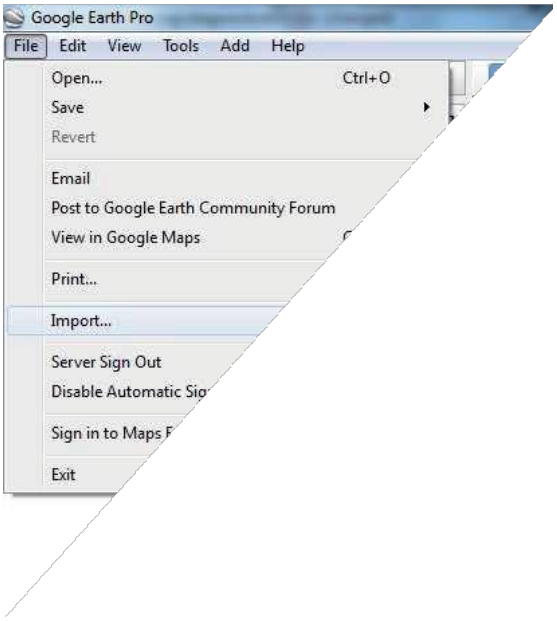
- ¡Y así es como se hace

Crear marcadores desde una Tabla

Ya le hemos presentado los conocimientos básicos para utilizar Google Earth Pro para compartir información sobre la ubicación de un solo brote. Sin embargo, a menudo puede haber varios brotes en varias ubicaciones o se han registrado las ubicaciones individuales de los animales moribundos o muertos en un brote determinado. Seguir el procedimiento anterior para cada ubicación puede resultar tedioso a medida que aumenta el número de ubicaciones. En esta sección, demostraremos cómo crear marcadores de posición en Google Earth Pro a partir de una tabla.

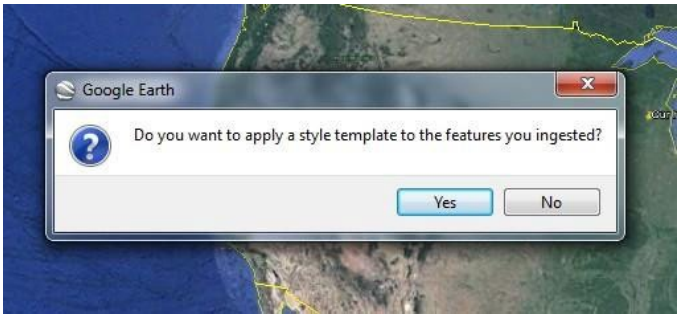
1. Si es necesario, cree una tabla con las ubicaciones de interés. Google Earth Pro utiliza el sistema de coordenadas geográficas (es decir, latitud y longitud) en el Sistema Geodésico Mundial de 1984 (WGS84). Por lo tanto, las ubicaciones deben especificarse en este formato; sin embargo, Google Earth reconocerá las coordenadas importadas que estén en grados, minutos y segundos (DMS), grados decimales (DD) o grados, minutos y segundos decimales (DMM). A continuación, se muestra la tabla de puntos de datos que utilizaremos para la ilustración especificada en DDD.
2. Una vez que haya creado/recibido su tabla, ábrala en una hoja de cálculo y guárdela en formato de valores separados por comas (.csv).
3. Ahora abra Google Earth Pro y haga clic en el menú Archivo de la esquina superior izquierda. Desplácese hacia abajo y haga clic en "Importar".

Especie	Sexo	Edad	Fecha	Número de muertos	Latitud	Longitud	Comentarios
Borrego cimarrón	M	Carnero de 1 a 2 años	25/6/2016	1	37.600398	-105.102344	Notificado por un ciudadano
Borrego cimarrón	F	2 corderos	25/6/2016	2	37.611498	-105.085276	Un Cordero moribundo, otro muerto
Borrego cimarrón	F	7+	31/6/2016	1	37.587884	-105.080647	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	F	todos 4+	31/6/2016	4	37.648576	-105.089739	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	F	cordero	31/6/2016	1	37.623723	-105.047152	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	F	4+, Carneros de 1 a 2 años	31/6/2016	2	37.601617	-105.163026	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	F	1 a 2 años	31/6/2016	1	37.633389	-105.068236	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	M	4	1/7/2016	2	37.59999	-105.07778	encontrado por el biólogo investigador
Borrego cimarrón	F	cordero, 3	1/7/2016	2	37.61231	-105.15489	encontrado por el biólogo investigador



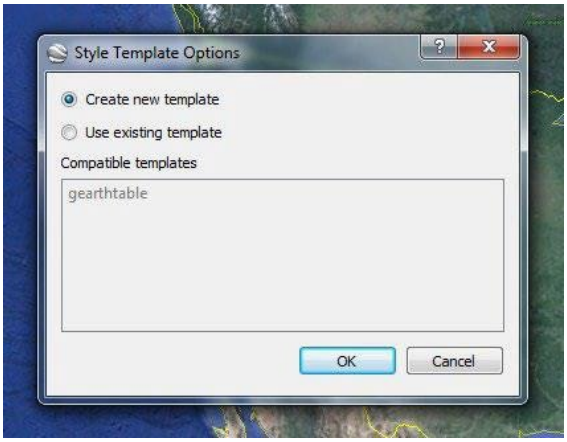
4. Esto hará que se abra un cuadro de diálogo en el que podrá buscar el archivo .csv que creó en el paso 2. Seleccione el archive deseado y haga clic en “Abrir”.

5. Se abrirá el siguiente cuadro de diálogo.



6. Seleccione “Sí” si desea personalizar el estilo de visualización y los identificadores de los marcadores de posición para cada ubicación. Si selecciona “No”, se utilizará el estilo por defecto para los marcadores y "sin nombre: se utilizará para los identificadores. Por lo general, esto no es lo más conveniente, por lo que seleccionaremos “Sí”.

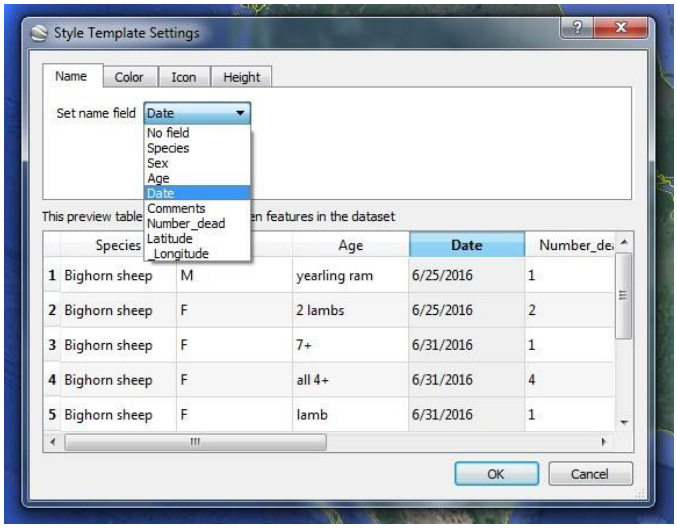
7. Luego se abrirá un nuevo cuadro de diálogo.



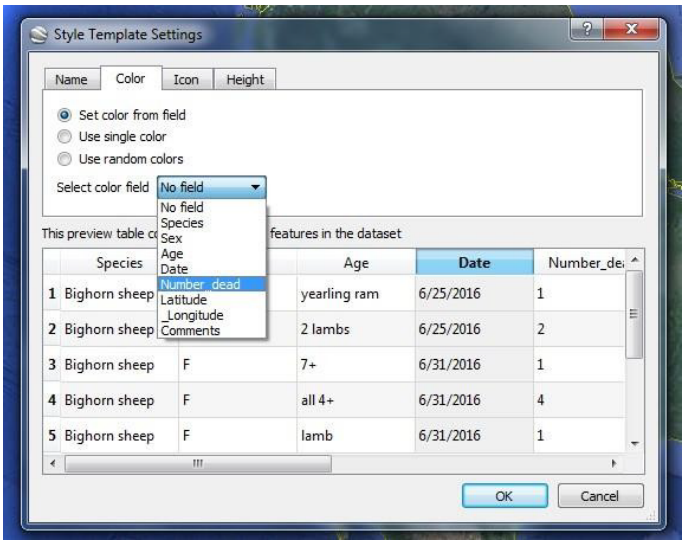
8. Si tiene una plantilla de estilo existente, puede seleccionarla aquí. Sin embargo, vamos a crear una nueva plantilla seleccionando “Crear nueva plantilla”, y haci endo clic en "Ok”.

9. El cuadro de diálogo resultante contiene una serie de opciones para el estilo de los marcadores de posición.

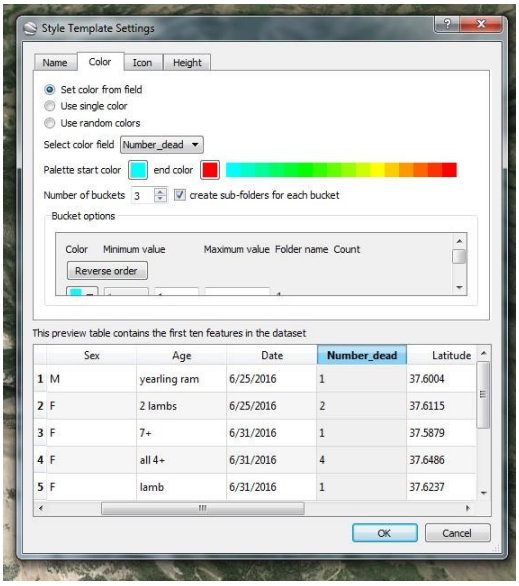
   (a) Primero, puede seleccionar el nombre que se mostrará para cada marcador de posición de entre los nombres de campo de la tabla importada. En este ejemplo, selecciono el campo de la fecha, lo que hará que la fecha se muestre encima de cada marcador de posición.



(b) A continuación, seleccionaremos el color de nuestros marcadores de posición haciendo clic en la pestaña “Color” del cuadro de diálogo. Tenemos varias opciones. Podemos elegir que todos los marcadores sean de un mismo color, podemos asignar un color aleatorio a cada marcador, o podemos asignar un color basado en un campo dentro de nuestra tabla. Haremos esto último y utilizaremos el campo “Número de muertos” seleccionando la opción “Establecer color desde el campo”. De este modo, podremos visualizar fácilmente el número relativo de individuos descubiertos en cada.

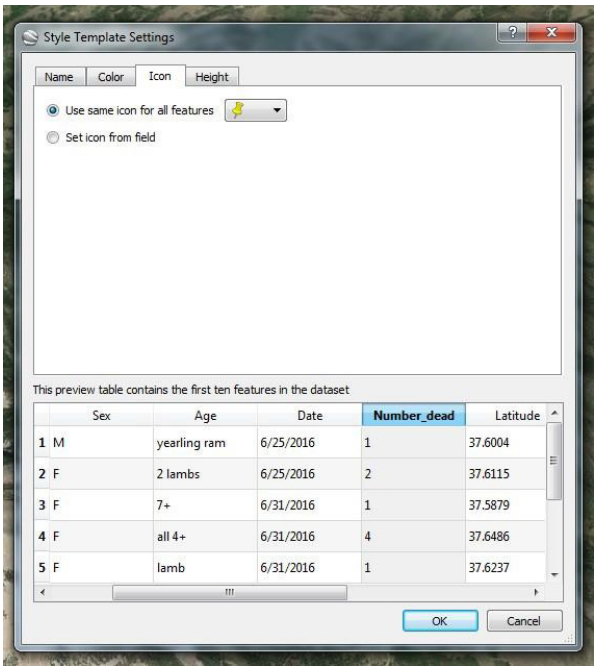


i. Una vez que hayamos seleccionado el campo “Número de muertos” podemos crear nuestra rampa de colores (es decir, la gama de colores para los diferentes valores de “Número de muertos”). Elegiré un verde claro como “color inicial” y un rojo como “color final”.

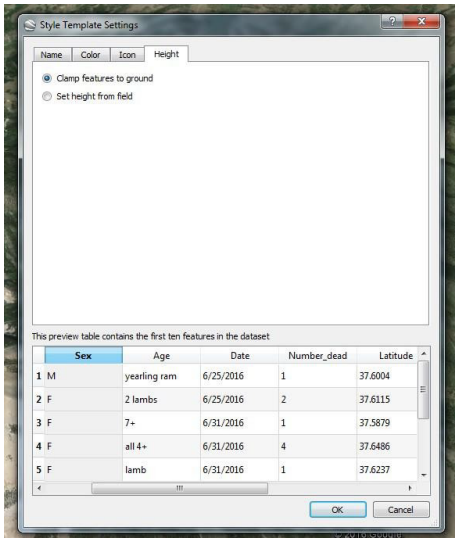


ii. A continuación, tenemos la opción de elegir el número de “cubos”. Este es el número de grupos que quiere crear en base a los valores del campo “Número de muertos”, por ejemplo. Sólo tenemos 3 valores diferentes por lo que quiero un cubo único para cada valor; sin embargo, si tuviéramos 100 valores únicos podríamos querer tener sólo 10 cubos y así Google Earth Pro pondría los valores del 1 al 10 en el primer cubo; los valores del 11 al 20 en el segundo cubo, y así sucesivamente. También se puede especificar qué números se desea tener en cada cubo o invertir el orden de los colores en la sección “Opciones de cubo”. Para este ejemplo, dejamos el número de cubos establecido por defecto en 3. En este punto, también tiene la opción de tener una subcarpeta creada en su lugar desplegable en el lado izquierdo de la pantalla para cada cubo. Esto facilita la selección de grupos de lugares basados en el “Número de muertos” para nuestro ejemplo. Así que marcaremos esa casilla.

(c) Ahora podemos seleccionar un estilo de icono para nuestros marcadores de posición haciendo clic en la pestaña Icono. Una vez más, puede utilizar un mismo icono para cada marcador de posición o puede hacer que el icono dependa de un campo de la tabla. En este ejemplo utilizaremos un icono para todos los marcadores de posición. Utilizaremos un icono con forma de alfiler.

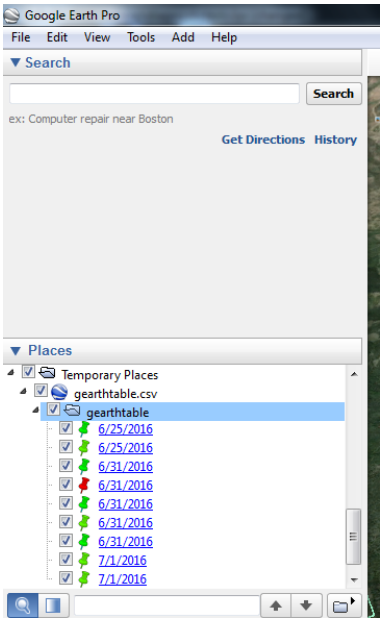


(d) Por último, podemos elegir cómo Google Earth Pro muestra los marcadores de posición en relación con la altura desde el suelo. Se puede especificar la altura basándonos en un campo de la tabla, o podemos hacer que cada marcador esté "pegado" o "sujeto" a su ubicación en el suelo. Elegimos la última opción y marcamos la opción "Fijar características al suelo". Con esto completamos nuestra especificación de estilo. Terminamos haciendo clic en "Aceptar".

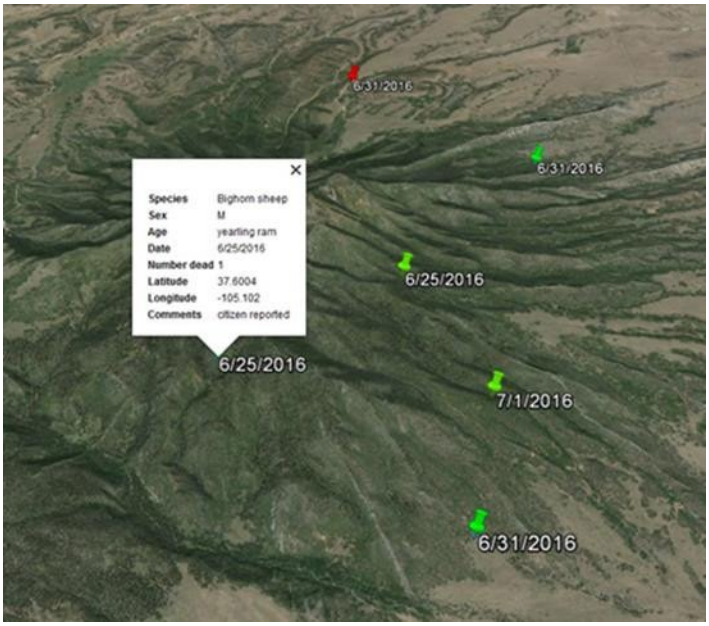


10. Guardaremos el nuevo archivo de plantilla como se nos pide.

11. Ahora puede desplazarse para ver sus marcadores de posición y puede recuperar la información asociada a cada marcador simplemente haciendo clic en él.



12. Puede guardar y compartir este archivo exactamente de la misma manera que se ha descrito anteriormente para un único marcador de posición.
13. Ya hemos creado nuestros marcadores de posición. Si no se muestran automáticamente, vaya al menú desplegable de Lugares en la parte izquierda de la pantalla. Los marcadores de posición recién creados aparecerán en la lista de "Lugares temporales". Habrá una carpeta con el nombre de su archivo .csv. Para activarla, haga clic en la casilla situada junto al nombre. Esto activará todos sus marcadores. Puede activar/desactivar los marcadores de posición individuales haciendo clic en la flecha junto a la casilla del nombre. Esto mostrará cada marcador con su propia casilla de verificación. Al hacer clic en la casilla de verificación, se activará o desactivará.



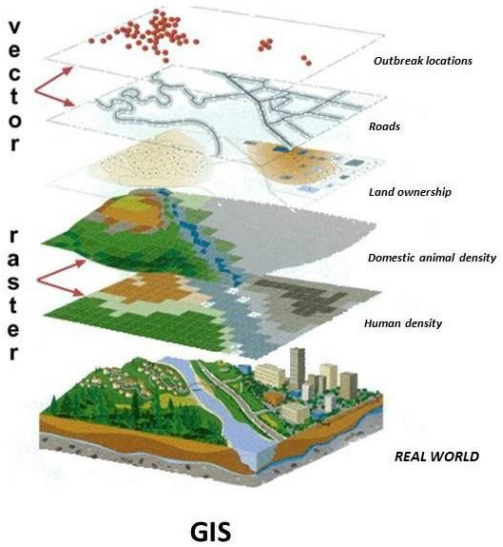
Hemos presentado un medio sencillo para visualizar y compartir datos sobre brotes. Sin embargo, a menudo es necesario realizar una visualización de datos más compleja mediante la superposición de fuentes detalladas y variadas de información geográfica. En estas circunstancias, los Sistemas de Información Geográfica (SIG) son la herramienta más adecuada.

Un SIG es un sistema diseñado para capturar, almacenar, manipular, analizar, gestionar y presentar todo tipo de datos espaciales o geográficos[7] con el fin de comprender patrones y relaciones. Cada vez se dispone de más datos georreferenciados para su uso en las investigaciones de brotes, y son útiles para evaluar el riesgo, la exposición de los impactos y las posibles intervenciones de gestión. Un SIG proporciona los medios para aprovechar esta riqueza de información de forma eficaz y rigurosa. Hay una serie de

[7] https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_de_informaci%C3%B3n_geogr%C3%A1fica

plataformas de software que proporcionan las herramientas y el marco para crear un SIG. Hay una serie de plataformas de software que proporcionan las herramientas y el marco para crear un SIG.

ESRI www.esri.com es una empresa líder que produce muchos productos SIG que se utilizan en todo el mundo y proporcionan una amplia gama de funcionalidades; sin embargo, los gastos de licencia pueden ser elevados. También existen programas de código abierto para la construcción de SIG. QGIS www.qgis.org/ es un ejemplo de este tipo de software que se utiliza ampliamente y proporciona gran parte de las capacidades de los productos más caros de ESRI; sin embargo, hay muchas aplicaciones SIG de código abierto, algunas de las cuales destacan para aplicaciones específicas. Una búsqueda en Internet es un buen punto de partida para evaluar el conjunto de posibles herramientas disponibles y obtener material didáctico. No hablaremos más de los SIG en este taller, pero queríamos ofrecer una breve introducción debido a su potencial para ser una herramienta importante en las investigaciones sobre brotes.



4. Proyecto R

Continuaremos nuestra discusión sobre la visualización de datos demostrando algunas de las características del programa estadístico R para la visualización de datos. R se está convirtiendo en el programa informático predeterminado para el análisis de datos científicos. Es de código abierto y proporciona una gran cantidad de capacidades geoestadísticas, que pueden utilizarse para modelar rigurosamente las características de los procesos de enfermedad y brotes. Nos centraremos en demostrar cómo introducir y mostrar datos geoespaciales y de brotes en R, donde se pueden llevar a cabo análisis estadísticos sofisticados (aunque en este taller no nos centraremos en dichos análisis). El programa R y todas las bibliotecas necesarias (es decir, los módulos que pueden cargarse en R para determinados análisis) pueden descargarse gratuitamente del sitio web CRAN https://cran.r-project.org/. Nuestro ejemplo para motivar su uso se basará en los eventos de mortalidad del síndrome de la nariz blanca (WNS) extraídos de la herramienta de notificación de eventos del Centro Nacional de Salud de la Vida Silvestre (NWHC) del Servicio Geológico de los Estados Unidos, WHISPers[8]. Discutiremos esta herramienta brevemente; sin embargo, generamos un archivo .csv a partir de esta herramienta que contenía la ubicación espacial y los datos de atributos asociados para cada evento del WNS notificado a la NWHC desde 2007. Llevamos a cabo un post-procesamiento, lo importamos a R y creamos un marco de datos en R llamado "wnsout:". A continuación, mostramos un extracto de la tabla final.

[8] https://whispers.usgs.gov/home

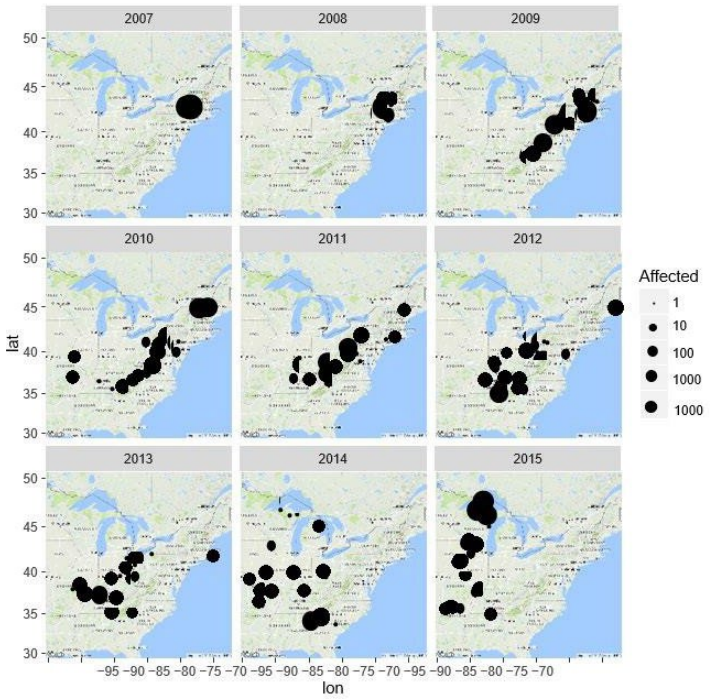
```
##   States     Counties Event.ID Start.Date   End.Date
## 1     AL      Jackson    16432 2012-03-01 2012-04-15
## 2     AL    Limestone    17169 2015-02-04 2015-04-15
## 3     AR     Franklin    17133 2015-02-10 2015-04-01
## 4     AR Independence    17135 2015-01-16 2015-04-01
## 5     AR       Marion    16840 2014-01-12 2014-04-01
## 6     AR       Newton    17134 2015-01-31 2015-04-01
##   Affected                                          Species
## 1       71    Eastern Pipistrelle, Northern Long-Eared Bat
## 2        3                Eastern Pipistrelle, Indiana Bat
## 3        3 Eastern Pipistrelle, Big Brown Bat, Indiana Bat
## 4        2                              Eastern Pipistrelle
## 5        5                          Northern Long-Eared Bat
## 6        3                              Eastern Pipistrelle
##       Event.Diagnosis    XCOORD   YCOORD year
## 1 White-nose Syndrome -85.99936 34.77945 2012
## 2 White-nose Syndrome -86.98140 34.81010 2015
## 3 White-nose Syndrome -93.89064 35.51232 2015
## 4 White-nose Syndrome -91.56971 35.74157 2015
## 5 White-nose Syndrome -92.68422 36.26839 2014
## 6 White-nose Syndrome -93.21787 35.91997 2015
```

Utilizaremos la librería ggmap para visualizar los datos de los eventos del WNS en R. Empezaremos por trazar todos los eventos en un "gráfico de burbujas" para representar la ubicación y el tamaño relativo de cada evento. Utilizaremos el siguiente código R para crear el gráfico. No repasaremos el código en detalle, pero cada línea está anotada inmediatamente después o debajo de ella describiendo su propósito y para permitir su comprensión y reproducibilidad.

```
library(ggmap) #load necessary libraries
library(knitr)
#wnsout<-read.csv(wnsdata)
    #command to import data from .csv file
    ######Note it is currently commented out using "#"

sbbox <- make_bbox(lon = wnsout$XCOORD, lat = wnsout$YCOORD, f = .01)
    #create bounding box for data
map<-get_map(location=sbbox, maptype = "terrain",
             source='google',color='color')
  #pull the area interest from google maps

p1<-ggmap(map)+  #use map as background

  geom_point(data=wnsout,aes(x=XCOORD, y=YCOORD, size=Affected, shape=21))+
    #bubble plot of event locations/bubble sizes= based on # affected
  scale_size_continuous(breaks=c(1, 10, 100, 1000, 10000),
                        trans="log10",range=c(1,8))+
    #create breaks in # affected for bubble plot sizes
  scale_shape_identity()
    #used to allow shape =21/open circles be used for shape
p1  #plot map
```

Si examinamos este gráfico, queda claro que tal vez no sea la mejor manera de visualizar los datos, dado el número de eventos que se han producido y el gran grado de superposición espacial. Así que volvemos a trazar la información, pero ahora creamos un gráfico de burbujas para cada año.

```
p1+facet_wrap(~year) #create bubble plot for each year
```

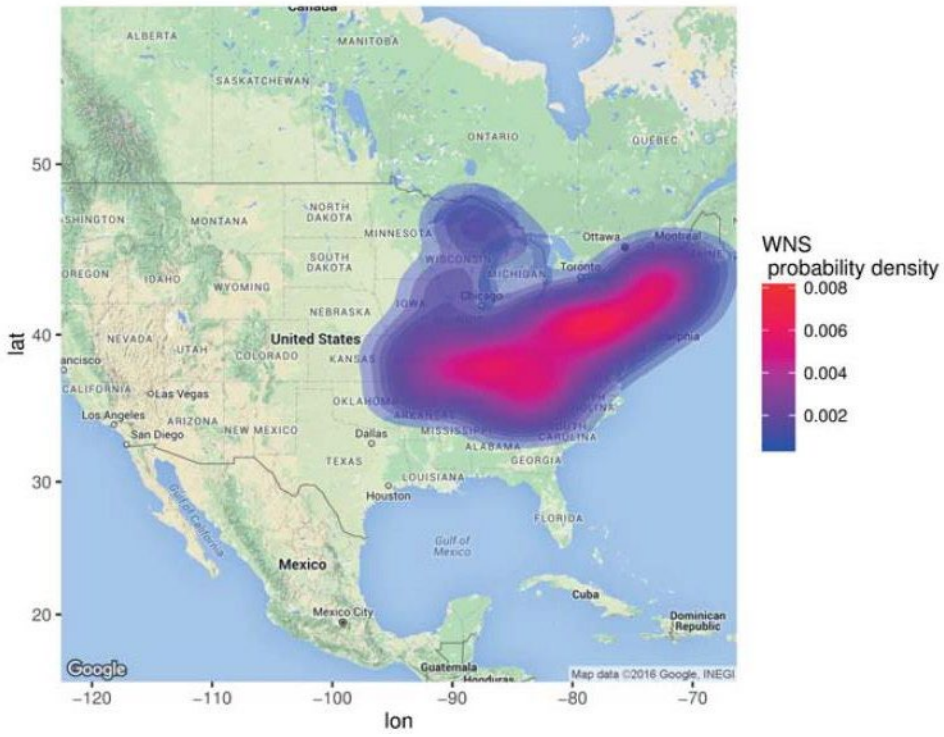


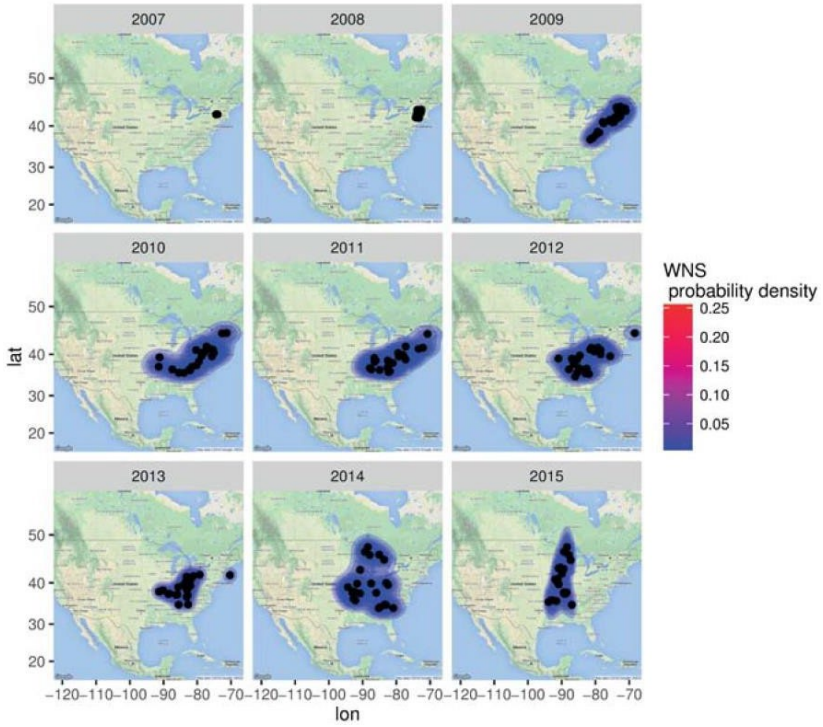
También puede ser conveniente disponer de un mapa que represente la intensidad de los eventos del WNS en lugar de la representación de la trama de burbujas. Aquí es donde empieza a brillar la verdadera potencia de R. Una forma sencilla de crear dicho mapa es utilizar una rutina de estimación de la densidad del núcleo para crear y visualizar la superficie de intensidad deseada. Esta superficie se puede superponer a un mapa para proporcionar el contexto geográfico necesario. Esto se hace simplemente utilizando las siguientes líneas de Código:

```
library(ggmap) #load necessary libraries
library(knitr)
#wnsout<-read.csv(wnsdata)
#command to import data from .csv file
# Note it is currently commented out using "#"

map<-get_map(location="eastern united states",zoom=4, maptype = "terrain",
             source='google',color='color')
  #pull the area interest from google maps
```

```
p2<-ggmap(map)+  #use map as background
    stat_density_2d(aes(x=XCOORD, y=YCOORD,fill=..level..),alpha=0.25,
                    data=wnsout, bins=20, geom="polygon")+
    #calculate kernel density of WNS events
  scale_alpha_continuous(range=c(0.1,0.5))+
    #set transparency
  scale_fill_continuous(low = "blue", high = "red",
                        name="WNS\n probability density")
    #set color ramp and legend title
p2  #plot map
```

También podemos crear una superficie de intensidad para cada año, como hicimos con los gráficos de burbujas. Esto se facilita simplemente añadiendo una línea de código adicional.

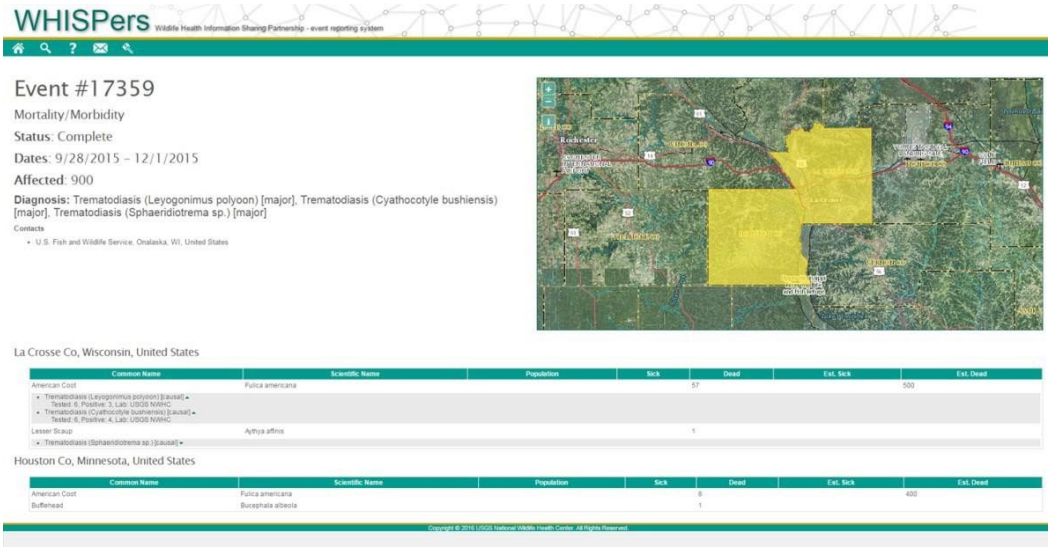




R tiene muchas más funciones para la visualización de datos, incluyendo la posibilidad de importar archivos .shp (el formato de archivo SIG de ESRI), y tiene una gran cantidad de capacidades estadísticas. Nuestro propósito aquí es ofrecer una rápida introducción a R y demostrar algunas de sus capacidades para la visualización de datos. La única desventaja de R es la necesidad de aprender el lenguaje de programación; sin embargo, hay muchos recursos impresos y en Internet para utilizar R si se desea mayor información.

WHISPers de USGS. Para finalizar, haremos una breve descripción de una herramienta de visualización de datos y de conocimiento de la situación desarrollada específicamente para los datos sanitarios de la fauna salvaje. El *Wildlife Health Information Sharing Partnership - event reporting system* (WHISPers) desarrollado en la NWHC es un repositorio basado en la web para compartir y visualizar información básica sobre eventos históricos y en curso de mortalidad y morbilidad en animales salvajes. El sistema proporciona a los gestores de recursos naturales información precisa y en tiempo oportuno sobre estos eventos para facilitar la gestión de enfermedades y los esfuerzos de planificación. Se puede acceder a él en la siguiente dirección: https://whispers.usgs.gov/home. A continuación, se muestra un ejemplo de la interfaz de WHISPers.

A diferencia de las bases de datos de muchos laboratorios veterinarios, la estructura de la base de datos de WHISPers se construyó en torno al concepto de eventos de fauna salvaje y no de animales individuales. Aunque la determinación de la causa de un evento incluye los resultados de los diagnósticos de un número representativo de animales afectados, estos hallazgos se utilizan junto con la información epidemiológica (especies afectadas, distribución por edad y sexo, ubicación, época del año, etc.) para determinar la supuesta causa del evento más grande. El motivo principal de este concepto es que la gestión de las enfermedades de la fauna salvaje suele estar orientada a la protección de las poblaciones y no de los animales individuales. Por ejemplo, un individuo de una colonia de aves acuáticas puede tener una infección bacteriana aguda, pero si cientos de aves en este lugar están muriendo de botulismo aviar, los esfuerzos se centrarían generalmente en las circunstancias atenuantes que causan el brote de botulismo. A la fecha, la base de datos contiene más de 40 años de registros recopilados por la NWHC sobre eventos de mortalidad de la fauna silvestre, incluida la información sobre eventos compartida con la NWHC por socios estatales y federales. Por lo tanto, contiene un subconjunto de todos los eventos de mortalidad que se han documentado en América del Norte.



Los registros de WHISPers se pueden buscar por especie, enfermedad, ubicación (a nivel de condado de EE.UU.), número de afectados y fecha del evento. Se puede visualizar los eventos en un mapa interactivo, así como descargar los datos en un archivo .csv. Al seleccionar un evento en su búsqueda, se abrirá una pantalla con información adicional sobre el evento, incluyendo los contactos a nivel de agencia y el número de afectados para cada especie. En el sitio web también hay una sección de preguntas frecuentes e instrucciones para utilizar y buscar en WHISPers.

Se está trabajando en la creación de un mecanismo para que otros socios introduzcan información sobre la mortalidad de la fauna silvestre, mejorando así la cobertura temporal, de especies y geográfica de este conjunto de datos a largo plazo. Es importante señalar que el sistema no está pensado para la recopilación de datos por parte de ciudadanos, sino para la verificación de la información recopilada por biólogos y la confirmación de los diagnósticos en un laboratorio. Por ello, el sitio web requiere que los usuarios se registren como colaboradores antes de poder introducir datos. De forma similar a la creación de "círculos de amigos" en las redes sociales, los usuarios pueden crear "grupos de usuarios" en los que pueden permitir a otros el acceso para ver y editar sus datos. Las páginas de entrada de datos incluirán todos los campos de datos de diagnóstico, especie y ubicación, así como un campo que determina si el público puede ver el evento. Una vez desplegadas estas funciones, se empezará a trabajar en la incorporación de herramientas de análisis en el sitio.

IV. Equipo de Protección Personal (EPP) y Bioseguridad durante a Investigación sobre el Terreno de las Enfermedades de la Fauna Silvestre

1. Equipo de Protección Personal

En caso de que usted tenga la posibilidad de responder a un evento de mortalidad de la fauna silvestre, es imperativo prepararse con antelación para disminuir el riesgo de transmisión de enfermedades al personal, y para garantizar la correcta recopilación, manipulación y envío de muestras. Es tan importante contar con el equipo de protección personal (EPP) adecuado como lo es saber ponérselo y quitárselo correctamente. Como regla general, si existe la posibilidad de que el evento de mortalidad de la fauna silvestre haya sido causado por un agente infeccioso, es responsabilidad del equipo de investigación usar el EPP y ayudar a otros en el terreno con la protección adecuada. La disponibilidad de material puede variar de una región a otra. A efectos de esta formación, no nos centraremos en ninguna marca específica de EPP, sino en el propósito fundamental de la protección. Cabe señalar que el momento de obtener el EPP y de formarse en el procedimiento adecuado para ponérselo y quitárselo es mucho antes de que se produzca un suceso de mortalidad real. Un personal bien informado y capacitado también debe conocer los tipos y el lugar de guardado de los EPP de su agencia para poder responder de manera segura y mucho más rápida.

Nota: El tipo de EPP variará en función del nivel de protección requerido.

a. Opciones de Equipos de Protección Personal en los estudios de campo

Los materiales más utilizados son: máscaras, guantes, botas, monos, respiradores y gafas. Este equipo pone una barrera entre usted y el agente patógeno. El nivel de protección necesario depende de la situación.

Equipo sugerido: Listo para llevar en una caja de investigación de campo.

- Botas de goma u otros cubrezapatos lavables/ desinfectables.
- Guantes de látex y nitrilo en varios tamaños.
- Batas
- Respiradores o barbijos.
- Pantalla facial o protección para los ojos.
- Desinfectante e instrumentos de aplicación (pulverizadores)

Los métodos para el uso del EPP deben evaluarse según la causa conocida o sospechada de la enfermedad, el riesgo zoonótico para el personal, las posibles vías de transmisión y cualquier profilaxis o tratamiento disponible. El EPP también debe evaluarse teniendo en cuenta la practicidad y la carga para el trabajador en casos de clima extremo. En caso de temperaturas muy altas, no se debe esperar que los trabajadores lleven monos completos, respiradores y protectores faciales durante un tiempo excesivo, debido a la preocupación por la deshidratación o el estrés térmico.

Antes de comenzar a trabajar con o alrededor de la fauna silvestre, debe preguntarse lo siguiente:

- ¿Cuáles son los posibles riesgos o peligros en mis zonas y/o con las especies con las que voy a trabajar? ¿Cuáles son los signos clínicos de estas enfermedades en los seres humanos y en la fauna salvaje?
- Teniendo en cuenta los riesgos, ¿qué EPP necesitaré antes de empezar a trabajar? ¿Dispongo de los conocimientos y recursos necesarios? Esbozar un plan en un análisis de riesgos del trabajo y discutirlo con un supervisor.
- ¿Existen problemas de salud específicos para mí o para algún miembro de mi equipo? Las condiciones pueden incluir el embarazo, un sistema inmunológico comprometido, etc. ¿Es necesaria la vacunación previa a la exposición? Hable de sus problemas de salud específicos con su médico.
- ¿Existe alguna señal de alarma? (Véase más abajo)

Señales de alarma:

Múltiples animales muertos de causa desconocida, sangre procedente de cualquier orificio (nariz, boca, recto, etc.) sin ningún signo de traumatismo, presencia de lesiones llenas de pus en los pulmones o cualquier animal que presente signos neurológicos

Medidas de seguridad estándar cuando se trabaja con animales salvajes o se manipulan materiales potencialmente infecciosos:

1. Utilice siempre barreras de protección; esto puede incluir guantes.
2. Lavarse bien las manos con agua y jabón después de quitarse los guantes.
3. Desinfectar el equipo sucio y las superficies o artículos contaminados.
4. No comer, beber, fumar o masticar chicle mientras se manipula la fauna silvestre
5. Trabaje en áreas bien ventiladas cuando esté en el interior, y con el viento en contra de donde se encuentres los ejemplares cuando esté en el exterior.
6. Evite pincharse con agujas y cortes. Prepare y utilice contenedores seguros para eliminar los "objetos punzantes".
7. Transportar y almacenar las muestras de forma adecuada y segura. Etiquetar adecuadamente las muestras biológicas.
8. Solicite atención médica cuando esté enfermo e informe al proveedor de la posible exposición a enfermedades.

Los patógenos de la fauna silvestre se transmiten por tres vías principales de exposición: por contacto, por aerosoles y por vectores. Considere cada una de estas vías cuando planifique su actividad, y cómo puede protegerse en cada situación.

b. Contacto

La fuente más común de transmisión es el contacto, especialmente si se tocan los ojos, la nariz o la boca con manos contaminadas. La herramienta más eficaz para la protección es una buena higiene de manos:

- Utilice guantes cuando esté en contacto con animales, sus fluidos o un entorno contaminado.
- Lávese siempre las manos con agua y jabón (durante al menos 20 segundos) después de quitarse los guantes. Esto es especialmente importante antes de comer, beber, fumar o utilizar el teléfono móvil.
- El desinfectante de manos puede ser útil en el campo cuando no se puede lavar las manos inmediatamente.
- Se debe considerar el uso de monos o cuando la ropa o los materiales puedan estar contaminados.
- Si su trabajo puede generar salpicaduras o gotas, se debe utilizar gafas de protección o un protector contra salpicaduras para disminuir el contacto.

c. Aerosoles

Se recomienda trabajar siempre en un área bien ventilada y en dirección contraria al viento de una zona o un cadáver potencialmente contaminado. Además, en circunstancias en las que la especie o el área geográfica pueden incluir patógenos de alto riesgo y actividades que sean propensas a transmitir patógenos por aerosoles, puede ser necesario utilizar EPE adicional.

Las situaciones que requieren protección respiratoria son:

- Al realizar una necropsia de un aminal que se sospecha que ha sido infectado.
- La recopilación de muestras en el terreno o la necropsia en cadáveres cuando la transmisión por vectores representa un riesgo.

El uso de una mascarilla de respiración puede requerir una autorización médica, y debe ajustarse para garantizar un sellado adecuado. Las máscaras antipolvo estándar son similares a los respiradores, pero no filtran la misma cantidad y pueden no protegerle contra los agentes infecciosos.

d. Vectores

Las enfermedades transmitidas por vectores varían según la región geográfica y los tipos de vectores, patógenos y huéspedes que pueden estar presentes. Las estrategias para protegerse de las enfermedades transmitidas por vectores son:

- Utilizar un repelente de insectos que contenga DEET y/o llevar ropa tratada con permetrina.
- Lleve pantalones y mangas largas; se debe meter los pantalones dentro de los calcetines, o utilice monos con cierres elásticos en las muñecas y los tobillos.
- Realizar controles de garrapatas inmediatamente después del trabajo de campo.
- Ducharse dentro de las dos horas siguientes al regreso del campo. Si es posible, colocar la ropa en una secadora para eliminar las garrapatas.

e. Vacunas de preexposición

En las regiones en las que el virus de la rabia está presente en las poblaciones de mamíferos, se debe considerar la vacunación antirrábica previa a la exposición para el personal de la fauna silvestre. La vacunación previa a la exposición no elimina la necesidad de una evaluación médica tras una posible exposición a la rabia; sin embargo, simplifica y reduce los costos y la cantidad de tratamiento posterior a la exposición. Entre el personal con riesgo de exposición a la rabia se pueden incluir a las personas que manipulan murciélagos, las que pueden ser responsables de la investigación de cualquier evento de mortalidad que implique rabia terrestre, o cualquier persona que responda a un evento con signos neurológicos no diagnosticados. En el caso de la exposición al virus de la rabia, una vez que un individuo muestra signos de infección, esto conduce a una progresión de la enfermedad universalmente fatal.

Además de la vacunación contra la rabia, puede ser conveniente considerar la vacunación contra otras enfermedades (por ejemplo: la vacuna contra la viruela es protectora contra la viruela del mono) y tener un seguro de salud laboral con disponibilidad de antibióticos y medicamentos antivirales.

En el Centro Nacional de Sanidad de la Vida Silvestre del USGS, hacemos que nuestros biólogos y técnicos en biología lleven una tarjeta médica con información sobre posibles exposiciones. Si corresponde, como parte del plan de seguridad laboral de su entidad, considere la posibilidad de crear un tipo de tarjeta similar para ayudar al médico a detectar enfermedades zoonóticas en los trabajadores de campo que puedan enfermarse.

Éste es un ejemplo de dicha tarjeta:

ATTN: Medical Personnel

This person works with wildlife and may have been exposed to certain zoonotic diseases not routinely considered in the differential diagnoses of febrile illnesses. In case of sickness in this individual, please consider zoonotic diseases including, but not limited to the following:

Anthrax, Arbovirus encephalitis, Brucellosis, Giardiasis, Hantavirus, Hendra Virus, Highly Pathogenic Avian Influenza, Histoplasmosis, Leptospirosis, Lyme Disease, Monkeypox, Mycotoxicosis, Nipah Virus, Psittacosis, Q Fever, Rabies, Rocky Mountain Spotted Fever, Salmonellosis, Sylvatic Plague, Tularemia, Typhus, & West Nile Virus.

(continued on back)

For more information on the occurrence of these diseases in *humans*, please contact:
The Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Rd.
Atlanta, GA 30333
1-800-232-4636 (1-800-CDC-INFO)
http://www.cdc.gov/

CDC
CDC-INFO

For more information on the occurrence of these diseases in *wildlife*, please contact:
USGS National Wildlife Health Center
6006 Schroeder Rd.
Madison, WI 53711
(608)-270-2400
http://www.nwhc.usgs.gov/

USGS
science for a changing world

En el siguiente sitio web puede encontrar un excelente recurso para las prácticas seguras en el trabajo con la fauna silvestre: https://www.nps.gov/subjects/policy/upload/RM-50B_Chp54_Safe_Work_Practices_Handling_Wildlife-508.pdf.

Utilizado con el permiso del Servicio de Parques Nacionales del departamento del Interior de los estados Unidos.

2. Bioseguridad

Durante la Asamblea Mundial de Delegados de la 83ª Sesión General de la OIE (24-29 de mayo de 2015), se incorporaron varios términos nuevos al Código Terrestre, incluida la definición de bioseguridad. Definición de bioseguridad: La aplicación de medidas diseñadas para reducir el riesgo de introducción y propagación de agentes patógenos.

La limpieza y desinfección adecuadas de los equipos y vehículos pueden variar en función del agente causante del brote. Las opciones de limpieza son el detergente, el agua con jabón, el vapor, los desinfectantes en spray, la luz ultravioleta (luz solar) y la desecación.

La contaminación por algunos agentes es muy difícil o casi imposible de corregir (en particular las enfermedades priónicas) y debe tenerse en cuenta antes de llevar el equipo y los instrumentos a la zona. Cuando se planifica una respuesta a un brote de fauna silvestre, es imperativo que el equipo de investigación de campo no transporte el agente infeccioso desde una zona infectada a una zona

no infectada. El tráfico y los investigadores deben, si es posible, movilizar equipos por separado con vehículos, equipos y materiales de muestreo distintos para evitar cualquier riesgo de contaminación cruzada.

3. Bioprotección

La aplicación de conocimientos, técnicas y equipos para prevenir la exposición personal, del laboratorio y del entorno a agentes potencialmente infecciosos o peligros biológicos. El personal que abandone una zona en la que se sospecha que hay un brote debe desechar el EPP o descontaminarlo, meterlo en una bolsa doble y llevarlo fuera del lugar. Cualquier equipo que se pueda llevar a un área infectada debe ser considerado con precaución. Se deben tomar medidas de seguridad para proteger los equipos que no sean fáciles de descontaminar (por ejemplo, cámara digital, dispositivo GPS, radios de comunicación o teléfonos). Una opción es sellar estos artículos en bolsas de plástico transparentes que puedan ser desinfectadas junto con el EPP. Además del EPP, todos los materiales potencialmente contaminados deben ser desechados de forma segura si es posible, o desinfectados adecuadamente en caso de no ser desechables. Cuando se elabora un plan de bioseguridad durante la respuesta a un brote, se deben tener en cuenta los instrumentos, el equipo y los vehículos.

4. Puesto de Bioseguridad

Zona designada para ponerse y quitarse el EPP en la frontera entre las zonas limpias y las contaminadas. Este punto puede incluir una zona para lavarse las manos y las botas. Debe haber un lavapiés o un lavabotas, y debe incluir bolsas de eliminación para el EPP contaminado. El puesto de bioseguridad es un límite imaginario entre el lado limpio y el sucio, que debe estar demarcado. También puede haber una zona de tráfico limitado hacia la zona sospechosa, si se ha establecido la extensión geográfica del brote.

V. Pruebas de Diagnóstico

1. Objetivo

Los debates anteriores se han centrado en la investigación de los brotes y en las consideraciones logísticas asociadas a los mismos. A continuación, analizaremos las pruebas de diagnóstico en relación con la investigación de brotes. Cabe señalar que muchas de las consideraciones aquí expuestas también son pertinentes para la selección de pruebas de diagnóstico para su uso en actividades de vigilancia; sin embargo, enmarcaremos nuestro debate en términos de investigación de brotes. Antes de realizar las pruebas de diagnóstico es fundamental establecer claramente los requisitos para la realización de una prueba concreta. Aunque el objetivo de la investigación de un brote es establecer el mecanismo causal subyacente al brote, algunas de las preguntas clave que deben responderse antes de iniciar las pruebas de diagnóstico son:

1. ¿Qué información auxiliar está disponible para ayudar en la selección de la prueba?
2. ¿Se ha validado la prueba en la especie huésped y el patógeno de interés?

3. ¿Qué pretende medir esta prueba (por ejemplo, la exposición pasada, la presencia de un agente patógeno concreto) y es suficiente?
4. ¿Cuáles son las características de la prueba?
5. Teniendo en cuenta la calidad de las muestras recopiladas.
6. ¿Cuál será el rendimiento de esta prueba?
7. ¿Está la prueba fácilmente disponible en mi jurisdicción? Si no es así, ¿puedo encontrar laboratorios que puedan realizar la prueba?
8. ¿Qué recursos se necesitan para llevar a cabo la prueba?
9. ¿Existen mandatos legales o reglamentarios que exijan determinadas pruebas?

Estas son algunas de las principales consideraciones que hay que tener en cuenta a la hora de seleccionar una prueba de diagnóstico. Las analizaremos con más detalle a continuación.Es importante señalar que la OIE dispone de información específica para los patógenos de la lista de la OIE en el "Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres": (https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-terrestre/) y el "Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos" (https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-acuatico/)

Sin embargo, estas fuentes son limitadas en lo que se refiere a las pruebas de las especies silvestre.

2. Información Auxiliar

En algunos casos, puede haber información auxiliar sobre un brote determinado que ayude a seleccionar las pruebas de diagnóstico. Por ejemplo, si los cadáveres o las muestras se han enviado a un patólogo, estos científicos, basándose en sus exámenes, pueden proporcionar conocimientos clave sobre los posibles patógenos o enfermedades que pueden haber provocado el brote, basándose en sus hallazgos generales durante la necropsia. Por ejemplo, la histopatología es una técnica particularmente útil que los patólogos pueden utilizar para ayudar a determinar qué pruebas de diagnóstico pueden ser más útiles de realizar. La histopatología, o el examen microscópico de los tejidos, permite al patólogo evaluar las anomalías a nivel celular. Los cambios particulares observados en el tejido, como el grado, la localización y el tipo de inflamación, la presencia de necrosis, fibrosis u otros procesos celulares, pueden sugerir una causa de mortalidad infecciosa o tóxica concreta. En el caso de las enfermedades bacterianas, fúngicas y parasitarias, los organismos infecciosos pueden verse a menudo en el área de tejido. Esto es especialmente útil como complemento de las pruebas de diagnóstico para asociar un agente infeccioso con una lesión tisular concreta e identificarlo como causa de la enfermedad. Una advertencia sobre el uso de la histopatología es que se debe contar con tejidos frescos; debido a los artefactos creados por la descomposición, la histopatología no es útil para las muestras descompuestas. Sin embargo, esto no excluye el examen de muestras descompuestas por otros métodos.

3. Validación de las Pruebas de Diagnóstico

La OIE define la validación de pruebas como un proceso que determina la idoneidad de una prueba, que se ha desarrollado, optimizado y estandarizado adecuadamente para un propósito concreto. En el link del Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales terrestres de la OIE (https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/1.01.06_Validaci%C3%B3n.pdf) se puede encontrar una discusión general sobre la validación de pruebas, por lo que no se discutirá aquí

en detalle. Sin embargo, la validación de una prueba proporciona la garantía de que la prueba identificará de forma correcta y fiable los agentes patógenos o las enfermedades de interés. La validación de una prueba es un proceso intensivo y riguroso y, por lo tanto, requiere importantes recursos. Como resultado, las pruebas de diagnóstico tienden a ser validadas sólo en muestras específicas (por ejemplo, suero) de unas pocas especies de animales. Esto puede ser problemático para determinar los posibles patógenos o enfermedades implicadas en un brote en la fauna salvaje, ya que generalmente no existe ninguna prueba validada para las especies de fauna salvaje.

En el siguiente enlace de la OIE se puede encontrar un análisis detallado de la validación de pruebas con respecto a las especies silvestres. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.02.07_WILDLIFE.pdf

4. Objetivo de la prueba

El objetivo, o lo que se pretende medir con una prueba, es otra consideración fundamental para determinar la selección de la prueba de diagnóstico. En particular, a falta de una prueba validada, se recomienda seleccionar pruebas de diagnóstico que tengan menos probabilidades de verse afectadas por el tipo de especie animal implicada en el brote. Por ejemplo, las pruebas indirectas basadas en una respuesta inmunitaria del huésped (por ejemplo, ELISA) o que miden la exposición pasada serían menos recomendables que una prueba que detecte directamente la presencia de un patógeno (por ejemplo, PCR). El siguiente cuadro ofrece directrices muy generales a modo de ejemplo.

	MENOR probabilidad de verse afectada por la especie animal hospedadora	Opción intermedia	MAYOR probabilidad de verse afectada por la especie animal hospedera
Pruebas de detección de patógenos	Identificación directa: p. ej., parásitos	Cultivo de virus[9]	
	Cultivo bacteriano, fúngico, protozoario		
	PCR – depende de la matriz[10]		
	Inmunohistoquímica		
	Análisis químico (toxicología)		
Pruebas de anticuerpos u de otro tipo respuesta inmune	Neutralización del virus		Pruebas serológicas: ELISA
	ELISA de bloqueo (competitivo)		Pruebas cutáneas de antígenos (TB)
Otras	Genómica	Colinesterasa cerebral[11]	Metabonómica Transcriptómica

[9] Algunos virus pueden cultivarse en cultivos celulares estándar o en embriones de pollo, pero otros solo crecen en células derivadas de su especie hospedadora natural.

[10] El empleo de PCR en algunas muestras de ciertas especies, por ejemplo, heces de rumiantes, puede plantear problemas.

[11] Se emplea como prueba de detección para el envenenamiento por organofosforados y carbamatos. Sin embargo, las especies animales varían enormemente en contextos normales.

En este cuadro se ofrecen algunos ejemplos de posibles pruebas y su probabilidad de verse afectadas por las especies hospedadoras. Esta tabla se ha extraído del Manual de Formación sobre la Vigilancia y Declaración Internacional de las Enfermedades de los Animales Salvajes de la OIE (https://www.woah.org/app/uploads/2022/03/e-training-manual-2b0cycle.pdf) que contiene información relevante con respecto a las investigaciones de brotes.

Los campos emergentes de la genómica y la metabonómica son de especial interés. La genómica se define como: "una rama de la biotecnología que se ocupa de aplicar las técnicas de la genética y la biología molecular al mapeo genético y a la secuenciación del ADN de conjuntos de genes o de los genomas completos de organismos seleccionados, a la organización de los resultados en bases de datos, y a las aplicaciones de los datos"12. Esta tecnología puede ser útil para determinar los agentes biológicos causales asociados a los brotes. Por ejemplo, se ha utilizado con éxito para rastrear la propagación y los efectos de los reordenamientos de los virus de la gripe aviar. Asimismo, la metabonómica se define como "la medición cuantitativa de la respuesta metabólica de naturaleza dinámica y multiparamétrica de los sistemas vivos ante estímulos fisiopatológicos o bien, ante la modificación genética"13. En resumen, la metabonómica mide el conjunto completo de metabolitos presentes en un organismo o en muestras biológicas asociadas, y examina los cambios que se producen en ellos debido a perturbaciones como la infección o la enfermedad.

La metabonómica está estrechamente relacionada con la metabolómica, que se define como el "estudio sistemático de las huellas únicas que dejan los procesos celulares específicos en su paso, es decir, el estudio del perfil de los metabolitos (moléculas pequeñas) de una muestra biológica"[14].

Aunque hay cierto desacuerdo sobre las diferencias entre estos dos campos, la metabolómica suele centrarse en los metabolitos creados a nivel celular u orgánico en el marco del metabolismo endógeno normal, mientras que la metabonómica se centra en los efectos de factores exógenos, como las enfermedades, sobre los perfiles metabólicos. Por lo general, las investigaciones metabonómicas se han limitado al campo de la salud humana, pero pueden tener un uso potencial también en el ámbito de la salud animal. Por último, la transcriptómica es el estudio de los transcritos de ARN de una célula, tejido u organismo.

5. Características de las pruebas de Diagnóstico

A la hora de seleccionar una prueba de diagnóstico es esencial conocer sus características o su rendimiento. Si una prueba produce con frecuencia resultados incorrectos, su utilidad en la investigación de brotes puede ser limitada. La evaluación de la probabilidad de que una prueba produzca resultados precisos puede determinarse mediante el proceso de validación de la prueba. En general, la tendencia de una prueba a devolver resultados correctos se resume en las características de sensibilidad y especificidad.

- La sensibilidad se define como la probabilidad de obtener un resultado positivo en la prueba si el individuo está realmente infectado.
- La especificidad se define como la probabilidad de obtener un resultado negativo en la prueba si el individuo no está infectado.

Ejemplo

Supongamos que se ha producido la muerte de 100 borregos cimarrones (*Ovis canadensis canadensis*).

---

12 https://www.merriam-webster.com/dictionary/genomics
13 https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/metabonomics
14 https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/metabolomics

Basándose en los resultados de la necropsia macroscópica, el patólogo investigador ha sugerido que la causa de la muerte es una enfermedad respiratoria.

Usted está interesado en determinar si el agente causante es *Mycoplasma ovipneumoniae*, un agente bacteriano conocido por causar muertes relacionadas con enfermedades respiratorias en otras poblaciones de borregos cimarrones. Existe una prueba de cultivo bacteriano que ha sido validada. La sensibilidad de esta prueba es del 80% y la especificidad del 90%. Usted ha recogido 100 muestras de hisopos orofaríngeos de borregos cimarrones muertos y planea utilizar la prueba de cultivo bacteriano para evaluar la presencia de *M. ovipneumoniae*. Teniendo en cuenta esta información, ¿cuántas resultados falsos negativos (FN) esperaría? En este ejemplo, asumimos implícitamente que si *M. ovipneumoniae* es el agente causal, todos los individuos estarán infectados. Se trata de una suposición importante que analizaremos más adelante. Sin embargo, dada esta suposición, podemos calcular rápidamente lo siguiente:

$$F_{\mathrm{n}} = 100 \times (1 - 0.80) = 20$$

Esto ilustra el impacto de la sensibilidad en los resultados de las pruebas. Cabe esperar que 20 de nuestras 100 muestras de hisopo indiquen falsamente que el patógeno no está presente.

Este ejemplo también demuestra que la prevalencia real subyacente también afecta a nuestra interpretación de los resultados de las pruebas. En este caso, la especificidad no es una preocupación porque asumimos que todos los individuos estaban infectados. Sin embargo, supongamos ahora que la prevalencia real de *M. ovipneumoniae* es del 80% en las ovejas muertas. Ahora podemos calcular tanto el número de falsos negativos como el número de falsos positivos. Utilizaremos la siguiente tabla para demostrar ese proceso:

		Estado real de la enfermedad		
		+	-	Total
Resultados de la prueba de diagnóstico	+	80 × 0.80 = 64	20 × (1 – 0.90) = 2	66
	-	80 × (1 – 0.80) = 16	20 × 0.90 = 18	34
Total		80	20	100

Si analizamos la tabla anterior, podemos deducir que cabría esperar que 16 de nuestras muestras de hisopo dieran resultados falsos negativos (celda resaltada en rojo), y que 2 muestras dieran resultados falsos positivos (celda resaltada en verde). Lo que ilustra claramente este sencillo ejemplo es que las características de la prueba de diagnóstico afectan directamente a la confianza que tenemos en los resultados comunicados. En resumen, un resultado positivo de una prueba de diagnóstico no garantiza la presencia del patógeno en cuestión, ni un resultado negativo indica definitivamente la ausencia del patógeno. Esto también pone de manifiesto por qué la validación de las pruebas es un proceso importante, y por qué la falta de pruebas validadas para la fauna salvaje representa un problema.

Curiosamente, a pesar de que la sensibilidad y la especificidad son independientes de la prevalencia de un

patógeno entre los individuos afectados por un brote, la prevalencia real subyacente también influye en la interpretación de las pruebas de diagnóstico. Repitamos el ejemplo anterior, pero ahora supondremos que la prevalencia real es del 20%.

		Estatus real de la enfermedad		
		+	-	Total
Resultados de la prueba de diagnóstico	+		80 × (1 – 0.90) = 8	24
	-	20 × (1 – 0.80) = 4	80 × 0.90 = 72	76
Total		20	80	100

En este ejemplo, se espera que 4 de las muestras de hisopo produzcan resultados falsos negativos (celda resaltada en rojo), y 8 muestras darán resultados falsos positivos (celda resaltada en verde). Entonces, ¿cómo afecta la prevalencia real en las muestras de los brotes a nuestra interpretación de los resultados de las pruebas notificadas? En el mundo real, no conocemos la prevalencia real, sino que sólo conocemos los resultados de las pruebas notificados. Esto suele denominarse prevalencia aparente. Así, en nuestro primer ejemplo, calcularíamos nuestra prevalencia aparente como:

66/100 = 0.66.

En el segundo ejemplo, informaríamos de una prevalencia aparente de:

24/100 = 0.24.

En el primer caso subestimamos la prevalencia real y en el segundo sobrestimamos la prevalencia real... ¿por qué? La respuesta está en el hecho de que la prevalencia real, la sensibilidad y la especificidad interactúan para producir los resultados positivos y negativos observados en las pruebas. Esto puede mostrarse de forma probabilística como figura a continuación:

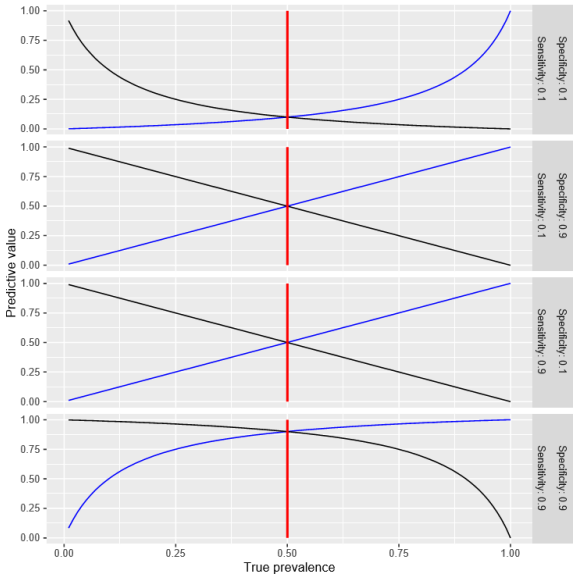
$$\Pr(+\text{test}) = \Pr(+\text{indiv}) \times \text{Sensibilidad} + (1 - \Pr(+\text{indiv})) \times (1 - \text{Especificidad}).$$

En otras palabras, la probabilidad de obtener un resultado positivo en la prueba es igual a la probabilidad de que un individuo esté realmente infectado o enfermo (es decir, la prevalencia real) multiplicada por la sensibilidad de la prueba sumada a la probabilidad de estar realmente no infectado o libre de enfermedad multiplicada por 1 menos la especificidad. De esta fórmula se desprende que las tres probabilidades: prevalencia real, sensibilidad y especificidad, interactúan para dar lugar a los resultados observados de la prueba. Una observación interesante es que existe un balance entre la probabilidad de que un animal con resultado positivo en la prueba esté realmente infectado o enfermo (es decir, lo que se conoce como valor predictivo positivo) y la probabilidad de que un animal con resultado negativo en la prueba no esté realmente infectado (es decir, lo que se conoce como valor predictivo negativo). Resulta que estos valores predictivos se maximizan conjuntamente con una prevalencia real de 0,50. Esto se muestra en la siguiente figura, donde el valor predictivo positivo se muestra en azul y el valor predictivo negativo en negro. La línea roja indica dónde se maximizan conjuntamente los valores predictivos.

¿Por qué es importante comprender la relación entre la prevalencia real, la sensibilidad y la especificidad a la hora de seleccionar las pruebas de diagnóstico para la investigación de brotes?

1. Sensibilidad: Es importante contar con una prueba de sensibilidad alta cuando el propósito de las pruebas de diagnóstico es "descartar" la presencia de un agente específico o demostrar la ausencia de una enfermedad particular. Una prueba altamente sensible significa que hay una baja probabilidad de que un animal infectado/enfermo dé un resultado negativo (es decir, los falsos negativos disminuyen).

2. Especificidad: Es importante tener una prueba de especificidad alta cuando el propósito de la prueba de diagnóstico es "incluir" la presencia de un agente o enfermedad específica. Una prueba altamente específica significa que hay una baja probabilidad de que un animal sano dé un resultado positivo (es decir, los falsos positivos disminuyen).
3. Por lo tanto, la sensibilidad y la especificidad pueden orientar la selección de las pruebas de diagnóstico para las investigaciones de brotes o la vigilancia en función de si el objetivo de la actividad es "descartar" o "incluir" un agente concreto.

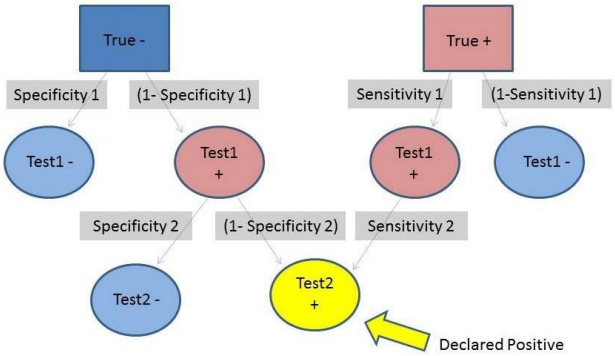


4. La prevalencia real es una información valiosa porque, dadas las características de una prueba, influye directamente en la probabilidad de clasificar correctamente animales individuales como sanos o infectados/enfermos. La elección de la prueba de diagnóstico puede entonces optimizarse en función de la prevalencia real.

En un escenario real, puede que se diga a sí mismo; esta es una gran información, pero en las investigaciones de los brotes de fauna salvaje probablemente no tendré una prueba validada ni sabré la prevalencia real subyacente.

Efectivamente, esto es cierto y la dura realidad de trabajar con especies silvestres. Sin embargo, los conceptos antes expuestos pueden seguir utilizándose a partir de conocimientos cualitativos sobre el sistema. Por ejemplo, la propia naturaleza de las distintas pruebas proporciona información sobre sus características relativas. De esta manera, la realización de una prueba PCR para un patógeno suele ser más sensible que un método de cultivo. Además, a menudo, durante las investigaciones de los brotes, podemos suponer que, si hay un único agente causal, éste debe tener una alta prevalencia entre los individuos afectados. Así es que, incluso en ausencia de un conocimiento absoluto, podemos seleccionar la prueba diagnóstica que mejor se adapte a nuestras necesidades basándonos en nuestra comprensión de la naturaleza cualitativa del sistema y en el conocimiento de cómo han funcionado las distintas pruebas en condiciones similares en otros sistemas. Otra opción cuando se desconocen las características de las pruebas y las tasas de prevalencia real es realizar múltiples pruebas para un agente. Las pruebas múltiples pueden realizarse en serie o en paralelo y pueden llevarse a cabo con diferentes pruebas o con la misma

prueba. El muestreo en serie se realiza probando las muestras varias veces y declarando una detección positiva sólo si todas las pruebas detectan el agente. Esto se hace a menudo para las actividades de vigilancia con una "prueba de cribado" con alta sensibilidad más barata que se emplea primero, y las muestras positivas se vuelven a analizar posteriormente con una "prueba de confirmación" con alta especificidad más cara. Básicamente, el muestreo en serie aumenta la especificidad y disminuye la sensibilidad del protocolo de pruebas. El siguiente gráfico ilustra el muestreo en serie y su efecto en las características generales de la prueba.



Pr(Overall Test -|True -) = Specificity 1 +(1-Specificity 1) X Specificity 2 > Specificity 1

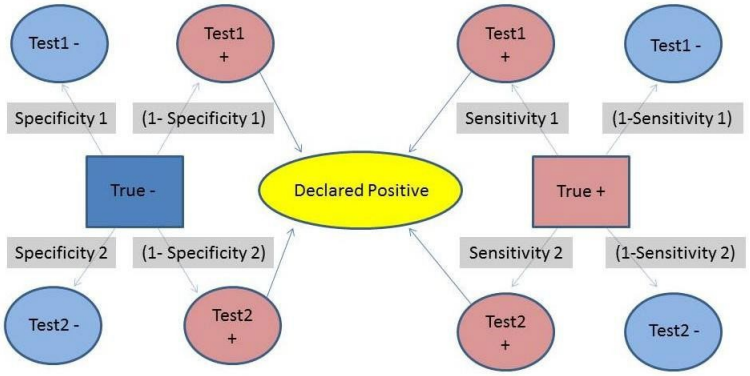
Pr(Overall Test +|True +) = Sensitivity 1 X Sensitivity 2 < Sensitivity 1

En el muestreo en serie, para que se declare un resultado positivo, un animal debe haber dado positivo (óvalo amarillo) con la primera prueba y luego también con la segunda. Por lo tanto, los animales verdaderamente positivos tienen una probabilidad de dar positivo; al producto de las sensibilidades de cada prueba. Dado que las sensibilidades de cada prueba son probabilidades, su producto será menor que la sensibilidad individual de cada prueba. A la inversa, un animal verdaderamente negativo será declarado negativo si la prueba 1 da un resultado negativo o si la prueba 1 da un resultado positivo y la prueba 2 da un resultado negativo. Por lo tanto, la probabilidad de dar un resultado negativo, dado que es negativo, es la suma de la especificidad de la prueba 1 y el producto de (1- especificidad de la prueba 1) y la especificidad de la prueba 2. Esta suma debe ser mayor que la especificidad individual de cualquiera de las pruebas.

El muestreo en paralelo consiste en analizar las muestras con varias pruebas y declarar una detección positiva si al menos una de las pruebas arroja un resultado positivo. El muestreo paralelo aumenta la sensibilidad a expensas de la especificidad.

El siguiente gráfico ilustra el muestreo en serie y su efecto en las características generales de las pruebas.

En el muestreo paralelo, para que se declare un resultado positivo (óvalo amarillo), un animal debe dar positivo a la prueba 1 o a la prueba 2. Los animales verdaderamente positivos tienen una probabilidad de dar positivo; a la suma de la sensibilidad de cada prueba individual. Por lo tanto, la sensibilidad del diseño de la prueba paralela debe ser mayor que las sensibilidades individuales de cada prueba. Para que los animales sean realmente negativos, deben ser declarados negativos por cada prueba, lo que implica que la probabilidad de obtener un resultado negativo es el producto de la especificidad de cada prueba. Este producto será menor que la especificidad de cada prueba.



Pr(Overall Test -|True -) = Specificity 1 x Specificity 2 < Specificity 1

Pr(Overall Test +|True +) = Sensitivity 1 + Sensitivity 2 > Sensitivity 1

En el muestreo en serie y en paralelo, nos basamos en las reglas generales de probabilidad para entender las características de la prueba resultante; sin embargo, los valores reales de la prevalencia real, la sensibilidad y la especificidad siguen siendo desconocidos. Esto puede no ser recomendable, sobre todo cuando se requiere una estimación de la prevalencia real de un agente en los individuos muestreados durante la investigación de un brote. En este caso, podemos aprovechar las técnicas utilizadas en ecología para la modelización de la distribución de las especies, conocidas como modelización de la ocupación[15].

Con unas pocas suposiciones simplificadas (es decir, sensibilidad de la prueba > (especificidad de 1 prueba)), estas técnicas pueden aplicarse directamente a las pruebas de diagnóstico de un agente en el que la ocupación del lugar es análoga a la presencia del agente en una muestra; probabilidad de ocupación - prevalencia real; probabilidad de detección - sensibilidad de la prueba; y probabilidad de falsa detección - 1- especificidad. La ventaja de este enfoque es la capacidad de estimar directamente la prevalencia real, la sensibilidad y la especificidad. Sin embargo, "nada es gratis", y para emplear esta técnica cada muestra debe ser analizada varias veces (es decir, 2) utilizando la misma prueba. Por lo tanto, hay costos de diagnóstico adicionales asociados a esta técnica.

En síntesis, es importante conocer las características de las distintas pruebas de diagnóstico disponibles, así como la tasa de prevalencia real del agente para el que se aplica la prueba. Sin embargo, en general,

[15] Ecology. 2006 Apr;87(4):835-41.

para la mayoría de los brotes de fauna salvaje se carece de esta información. En estas circunstancias, las características generales de las distintas pruebas, el propósito de la prueba y las suposiciones informadas sobre las tasas de prevalencia subyacentes basadas en el conocimiento de los expertos o en la experiencia pasada en brotes similares, pueden ser útiles como sustitutos del conocimiento completo. Además, se pueden aplicar múltiples pruebas para aumentar la sensibilidad o la especificidad en función de los objetivos de la investigación, o se puede utilizar la modelización de la ocupación ecológica para estimar los parámetros de interés.

6. Calidad de las Muestras

La condición o el estado en el que se encuentran los animales o sus cadáveres puede desempeñar un papel importante a la hora de determinar las pruebas de diagnóstico que pueden utilizarse durante la investigación de un brote. De hecho, si los cadáveres están demasiado autolizados puede que ni siquiera sea posible realizar pruebas de diagnóstico. En general, la recopilación de muestras biológicas de animales moribundos o de mortalidades recientes proporciona la mayor cantidad de opciones de pruebas de diagnóstico. Sin embargo, si no se pueden recoger muestras frescas, las pruebas directas dirigidas al patógeno, en particular las técnicas moleculares que no requieren un agente viable, pueden ser las más útiles. Si es posible, debe consultarse a un patólogo antes de la recopilación de muestras para asegurarse de que se conoce toda la variedad de pruebas posibles y de que se pueden obtener las muestras adecuadas.

Un segundo aspecto a tener en cuenta es la manipulación de la muestra una vez obtenida. La manipulación puede influir directamente en la calidad de la muestra y puede afectar a la utilidad de una prueba de diagnóstico. La manipulación implica muchos aspectos diferentes, como la temperatura, el medio de transporte, el tiempo transcurrido desde su recolección hasta el momento de conducir la prueba de diagnóstico, el contenedor, etc. Por ejemplo, en el estudio de la enfermedad respiratoria del borrego cimarrón se ha documentado que, en el caso de las pruebas de cultivo bacteriano, el tiempo que transcurre desde la recolección de la muestra hasta que se lleva a cabo la prueba de diagnóstico y las fluctuaciones de temperatura asociadas que pueden producirse en ese periodo de tiempo, pueden dar lugar a un crecimiento excesivo de especies a las que no está dirigida la prueba y afectar negativamente a la detección de las especies de *Pasteurella* a las que está dirigida. Por lo tanto, antes de seleccionar una prueba de diagnóstico, también es fundamental tener en cuenta las condiciones y la forma en que las muestras se pueden manipular de forma razonable en el campo.

7. Disponibilidad de las pruebas

La disponibilidad de una prueba diagnóstica deseada es otro aspecto a tener en cuenta. Es posible que la prueba que se prefiera no esté fácilmente disponible, y en estas situaciones puede ser necesario ver si otras jurisdicciones tienen la capacidad y la voluntad de asociarse. Estas asociaciones ofrecen una excelente oportunidad para crear colaboraciones y redes regionales de socios que puedan apoyarse mutuamente en la realización de investigaciones sobre brotes de fauna salvaje. La red de laboratorios y centros colaboradores de la OIE es otro recurso posible. La OIE ha nombrado determinados laboratorios, basados en su experiencia, como Laboratorios de Referencia de la OIE para patógenos específicos. Estos laboratorios pueden ser recursos muy valiosos en lo que respecta a las pruebas de detección de determinados patógenos y a la interpretación de los resultados de las pruebas. La información relativa a estos laboratorios puede encontrarse en https://www.woah.org/es/presentacion-de-las-actividades-de-las-comisiones-especializadas-de-la-oie/. Sin embargo, el envío de muestras a los Laboratorios de Referencia de la OIE puede plantear algunas dificultades, como la obtención de permisos entre países, que deben investigarse para determinar si es una opción viable. Si no se puede encontrar una opción aceptable, puede ser necesario utilizar una prueba de diagnóstico diferente, aunque sea menos preferible.

8. Recursos Necesarios

Los recursos necesarios son un aspecto importante a la hora de seleccionar una prueba de diagnóstico. Algunas pruebas de diagnóstico (por ejemplo, las pruebas genómicas) pueden ser caras, en particular para un gran número de muestras. Establecer la disponibilidad de fondos para las pruebas de diagnóstico durante la investigación de un brote puede limitar la elección de las pruebas de diagnóstico. El costo no es lo único que se debe tener en cuenta en cuanto a la disponibilidad de recursos. Algunas pruebas también pueden requerir equipos especiales para su obtención (por ejemplo, un medio particular) o personal especializado. Aunque quizás sea dolorosamente obvio, un requisito previo a la selección de una prueba de diagnóstico es tener un claro conocimiento y evaluación de la disponibilidad de los recursos necesarios para implementar con éxito la prueba.

9. Mandatos legales

Una última consideración es si existen mandatos legales específicos asociados a las pruebas para un patógeno o agente. Por ejemplo, dentro de los Códigos Sanitarios para los Animales Terrestres y Acuáticos de la OIE, se prescriben pruebas para patógenos específicos "para garantizar la seguridad sanitaria del comercio internacional de animales terrestres y acuáticos, y sus productos". Por lo tanto, para demostrar que un brote no está causado por un patógeno específico de la lista de la OIE, deben realizarse estas pruebas particulares. Los Manuales para los Animales Terrestres y Acuáticos que se describieron anteriormente proporcionan más orientación sobre la aplicación específica de las pruebas.

Código Sanitario para los Animales Terrestres: https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/

Código Sanitario para los Animales Acuáticos: https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-acuatico/

10. Ejemplos

Concluimos esta discusión analizando varias técnicas de diagnóstico diferentes utilizadas en las investigaciones de brotes de fauna salvaje: técnicas de cultivo y diagnósticos virales. Estos ejemplos pretenden describir algunos de los desafíos únicos que implica el empleo de varias técnicas de diagnóstico utilizadas para las muestras de fauna silvestre, e ilustrar muchas de las consideraciones discutidas anteriormente.

Técnicas de cultivo. Las técnicas de cultivo se utilizan con frecuencia para ayudar a diagnosticar enfermedades. En muchos casos, los análisis de cultivos son relativamente baratos, requieren poco equipo especializado y pueden arrojar resultados en varios días. La técnica es particularmente importante cuando se necesita aislar un patógeno para aplicaciones posteriores (por ejemplo, tipificación de cepas, análisis genéticos, etc.) y para los casos en los que no se sospecha de la causa de un evento de mortalidad, o las pruebas específicas del patógeno (por ejemplo, PCR) no logran identificar un agente causal. El síndrome de la nariz blanca (WNS) en los murciélagos es un ejemplo perfecto de la importancia de las técnicas de cultivo para identificar un agente causal. Cuando se descubrió el WNS en 2007, se desconocía el agente causante. Por lo tanto, no había pruebas moleculares (por ejemplo, ensayos específicos de PCR) que pudieran utilizarse para detectar el patógeno que causa la enfermedad. En su lugar, fue a través del análisis de cultivos que se encontró un único hongo que se asoció de forma consistente con el WNS. La obtención de cultivos vivos del hongo también fue esencial para las aplicaciones posteriores, como los ensayos de infección en laboratorio para confirmar su patogenicidad, el desarrollo de ensayos de PCR para detectar más rápidamente el patógeno y los análisis genéticos que demostraron que el hongo se introdujo en

Norteamérica desde Eurasia.

Sin embargo, los análisis de cultivos también pueden tener importantes limitaciones. En concreto, las técnicas de cultivo requieren que el microorganismo patógeno pueda cultivarse en el laboratorio, que se utilicen las condiciones de cultivo correctas; que el patógeno sea viable en la muestra que se está analizando; y que la muestra no esté contaminada con otros microorganismos, lo que puede confundir la capacidad de recuperar el patógeno de interés. En la mayoría de los casos, las técnicas de cultivo deben combinarse con otros análisis (como la histopatología) para generar un diagnóstico preciso, ya que las muestras estarán contaminadas con microorganismos que no son realmente la causa de la enfermedad. En el caso del WNS, fue necesario realizar múltiples intentos para aislar el agente causante porque el hongo sólo crece a temperaturas frías (condiciones de crecimiento no estándar en el laboratorio) y a menudo es difícil de aislar de los muchos hongos de crecimiento más rápido que suelen estar presentes en la muestra. Por ejemplo, el hongo Mucor se cultiva con frecuencia a partir de las alas de los murciélagos con WNS. Algunas especies de Mucor se consideran patógenas, pero está claro que este hongo no es la causa del WNS.

Diagnostico viral. Existe un gran número de familias virales que se sabe o se sospecha que infectan a los animales salvajes. Debido a su historia evolutiva y a sus estrategias de replicación independientes, no existe ningún motivo conservado ni ninguna secuencia de nucleótidos que pueda utilizarse como objetivo de detección universal que sea el equivalente al ARN ribosómico 16S/18S de las bacterias y los hongos. En su lugar, el diagnóstico viral puede variar desde un ensayo de detección ampliamente específico de la familia (por ejemplo, coronavirus) hasta una prueba específica de la cepa (por ejemplo, MERS), dependiendo de las necesidades de diagnóstico. Se deberá pensar en la recopilación de muestras adecuadas. Los agentes que tienen una fase virémica pueden tener títulos circulantes elevados durante el pico de viremia, pero la concentración de virus puede caer precipitadamente ante una respuesta inmune creciente. Algunos agentes virales tienen un tropismo tisular pronunciado, y la recolección del órgano apropiado afectará la probabilidad de llevar a cabo una identificación exitosa. La elección de los sistemas de cultivo afectará a la capacidad de recuperar (y, en última instancia, identificar) el agente víral. Algunos virus son marcadamente específicos del huésped y del tejido, mientras que a veces otros de la misma familia viral no lo son. Dependiendo del mecanismo de replicación viral, algunos virus requieren que las células se repliquen activamente, mientras que otros no. En general, los sistemas y las condiciones de cultivo deben imitar al huésped reservorio en la medida de lo posible. Proporcionar una variedad de sistemas de cultivo y pruebas de diagnóstico capaces de responder a las necesidades sanitarias de la fauna salvaje es un desafío continuo.

VI. Diseño de los Estudios

1. Propósito

Esta sección pretende destacar algunas de las consideraciones clave que deben tenerse en cuenta antes de llevar a cabo una investigación de un brote o un trabajo de vigilancia; sin embargo, enmarcaremos nuestra discusión en términos de investigaciones de brotes. A menudo, durante los brotes se necesita una respuesta rápida e inmediata; sin embargo, esto no es una justificación para no establecer claramente un diseño adecuado de los estudios antes de iniciar las actividades. No abordar los problemas de diseño puede dar lugar a una respuesta ineficaz o, en el peor de los casos, a la incapacidad de cumplir los objetivos de la investigación. Concluimos nuestro debate centrándonos en el diseño de los estudios debido a su importancia para el éxito de las investigaciones sobre brotes epidémicos, y para concluir haciendo hincapié en este tema fundamental.

2. Objetivos

El primer paso en la investigación de un brote es determinar cuáles son los objetivos de la misma. Los objetivos son la base sobre la que se construye toda la investigación, y los objetivos claramente definidos no sólo predeterminan las actividades necesarias, sino que también proporcionan orientación durante una investigación cuando surgen preguntas. Algunas preguntas clave que pueden ayudar a formular los objetivos son:

1. ¿Por qué se está llevando a cabo la investigación del brote?
2. ¿Que se espera aprender durante esta investigación?
3. ¿Quiénes son las partes interesadas involucradas?

Aunque la primera pregunta pueda parecer trivial, es de hecho fundamental. Por ejemplo, ¿la investigación se está llevando a cabo para asegurarse de que la mortandad no está asociada a un patógeno/enfermedad de declaración obligatoria a la OIE?; ¿se está llevando a cabo para determinar si existe una nueva enfermedad emergente?; ¿se está llevando a cabo como parte de las actividades rutinarias de vigilancia; etc.? Dependiendo de la respuesta a esta pregunta, el diseño del estudio tendrá implicaciones importantes.

La segunda pregunta amplía la primera y también ayuda a crear un diseño adecuado. Por ejemplo, ¿la investigación pretende: saber si un patógeno específico está presente en los animales individuales implicados en el brote; estimar la prevalencia de un patógeno; determinar los posibles factores de riesgo; determinar la extensión espacial, ¿etc.? Esta información determinará cuántos individuos habrá que muestrear, cómo se realizará el muestreo y a qué escala.

La última pregunta es útil para identificar a qué grupos de individuos puede ser necesario difundir o solicitar información sobre el brote. La participación de las partes interesadas puede ayudar a recopilar información sobre otros brotes que podrían no haberse detectado de otro modo. Además, la participación temprana de las partes interesadas puede ser beneficiosa para ayudar a comprender el riesgo potencial para la sociedad que supone el brote, y puede definir el tipo y el alcance de la acción necesaria para una investigación. Por último, la identificación de las partes interesadas sienta las bases para desarrollar una estrategia de comunicación pública eficaz.

3. Diseño del muestreo

Una vez que los objetivos hayan sido claramente definidos, el siguiente paso es determinar cuál es la métrica de interés, y cuántas y de qué manera deben recogerse las muestras. Existen numerosos diseños de muestreo que pueden aplicarse en función del brote o brotes específicos que se investiguen. Aquí detallamos algunos métodos comunes.

a. Métrica

Hay una variedad de métricas que pueden utilizarse para resumir y analizar la información recopilada durante una investigación de un brote, dependiendo de los objetivos. Es necesario entender cómo se analizarán los datos para determinar otros aspectos del diseño de un estudio. Describimos tres de las métricas más comunes.

Ausencia de la infección. Para establecer que el brote no está asociado a un patógeno concreto (por ejemplo, un patógeno/enfermedad de declaración obligatoria a la OIE) se deben recopilar datos para demostrar la presencia o ausencia de la infección en animales individuales asociados al brote. Esto significa que cada individuo, o una submuestra de los individuos implicados en el brote, se someterán a pruebas de detección del patógeno de interés, para determinar la ausencia del

patógeno en particular o no. Si se determina la presencia (es decir, se identifica el patógeno) en un individuo, está claro que los individuos no están libres de la enfermedad. Si éste fuera el único objetivo de la investigación, no sería necesario realizar más trabajos. Sin embargo, si se determina que el agente patógeno está ausente en todos los individuos analizados, será posible evaluar cuál podría ser la probabilidad de infección subyacente del agente patógeno para un nivel de confianza determinado, y seguir sin ser detectado durante las pruebas. Esta probabilidad de tener animales infectados (es decir, la prevalencia prevista) puede conocerse si se recoge el tamaño exacto de la muestra (descrito a continuación) necesario para alcanzar la confianza deseada para una tasa de infección prevista determinada; sin embargo, es frecuente que el número de individuos muestreados no alcance o supere este tamaño de muestra objetivo. En estos casos, dentro de un marco estadístico bayesiano y dado el número de individuos muestreados, es posible estimar la tasa de infección subyacente y su límite superior de credibilidad del 95%. El límite superior de credibilidad del 95% es el valor en el que hay un 95% de probabilidad de que la verdadera tasa de infección esté por debajo, y suele ser el valor de mayor interés. En el siguiente enlace se puede encontrar una referencia adecuada que describe esta técnica y cómo incorporar información auxiliar. http:// journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0089843

Prevalencia. La prevalencia es una de las métricas de enfermedad más utilizadas para medir la intensidad de un patógeno/enfermedad. Es la proporción de individuos afectados en un brote que tienen una enfermedad/patógeno, y caracteriza la extensión de una infección dentro de una población. Suele basarse en una sección transversal de la población y, si se basa en un único brote, surge de una "instantánea" en el tiempo. Sin embargo, en las investigaciones de brotes puede ser difícil determinar a qué período de tiempo se aplica la métrica de la prevalencia, ya que el brote puede haber ocurrido durante un largo período de tiempo antes de ser descubierto. La prevalencia y su medida de precisión asociada son fáciles de calcular, y se pueden realizar análisis más sofisticados para examinar los factores de riesgo y las relaciones espaciales y temporales.

Incidencia. La incidencia es una métrica mucho menos utilizada en las enfermedades de la fauna salvaje. La incidencia es la tasa de nuevos casos dentro de una población durante un periodo de tiempo determinado, y representa el riesgo de infección. Una de las principales razones por las que la incidencia no suele emplearse es porque requiere un seguimiento frecuente y regular de la población para establecer el número de nuevos casos que se han producido desde el periodo de seguimiento anterior. Esto puede ser bastante difícil en el caso de las poblaciones de animales salvajes, que a menudo pueden entrar y salir de una región, y pueden sucumbir a una enfermedad sin ser observados. Sin embargo, hay casos en los que puede emplearse si los objetivos de la investigación lo requieren. Por ejemplo, el seguimiento frecuente de un pequeño estanque en busca de anfibios que hayan muerto a causa de la quitridiomicosis. Al igual que la prevalencia, pueden emprenderse esfuerzos de modelización más sofisticados para dilucidar diversos factores de riesgo y otras relaciones.

b. Tamaño de la muestra- Ejemplares Individuales- Único Sitio

Curiosamente, el cálculo del tamaño de la muestra es la norma que se debe tener en cuenta para establecer la cantidad de esfuerzo necesaria para las actividades de vigilancia, pero a menudo se descuidan cuando se realizan investigaciones sobre brotes. Esto es lamentable porque puede impedir que se cumplan los objetivos de la investigación. Cuando los objetivos son claros, los cálculos del tamaño de la muestra pueden utilizarse para estimar la cantidad de esfuerzo de muestreo necesario.

El primer paso para estimar el tamaño de la muestra necesario durante la investigación de un brote

es definir claramente la población de interés. Esto puede ser bastante sencillo, por ejemplo, los murciélagos en un hibernáculo, o bien puede requerir un poco de "reflexión", por ejemplo, una investigación de la mortalidad de aves migratorias que involucra a varias especies. En cualquier caso, este paso es fundamental, ya que determina el marco de muestreo, que proporciona el contexto para los cálculos del tamaño de la muestra. Por ejemplo, nuestra intención es detectar una prevalencia del 1% del patógeno X con una confianza del 95%, pero no establecemos una definición de la población, entonces esta afirmación no tiene ningún significado probabilístico. En otras palabras, esto significa que el requisito de la prevalencia del 1% supone intrínsecamente que hay una población a la que se aplica la prevalencia, y si no definimos la población, entonces no tiene ninguna interpretación. La definición de la población también es importante para determinar la extensión espacial del muestreo (que se describe a continuación) que debe realizarse, y es necesaria a la hora de comunicar los resultados.

El segundo paso consiste en determinar la precisión de las estimaciones de la enfermedad (por ejemplo, la prevalencia) o el nivel de confianza deseado de la ausencia de la enfermedad. Esta información es necesaria para que cualquier análisis determine el tamaño de la muestra. Si se requiere una estimación extremadamente precisa o se busca un alto nivel de confianza de ausencia de enfermedad, habrá un aumento asociado en los requisitos de tamaño de la muestra. Por lo tanto, habrá un equilibrio entre el esfuerzo y los costos asociados y la precisión/confianza obtenida.

Una vez que se define la población, y se especifica el nivel de precisión o de confianza, se podrán calcular las estimaciones del tamaño de la muestra necesario. El Manual del 2° Ciclo de este curso de formación (https://www.woah.org/app/uploads/2022/03/e-training-manual-2b0cycle.pdf) aborda el tema del cálculo del tamaño de la muestra para detectar un patógeno, así como la estimación de la prevalencia de un patógeno para un programa de vigilancia. Las mismas técnicas pueden aplicarse a las investigaciones de brotes, y recomendamos a los interesados a consultar esa referencia. Nos gustaría señalar que AusVet[16] ofrece una herramienta gratuita útil para estimar el tamaño de las muestras necesarias para los programas de vigilancia o la investigación de brotes.

c. Muestreo de Unidades Geográficas

Uno de los objetivos más comunes de las investigaciones de brotes es determinar la extensión espacial de un brote o el grado en que afecta a una población en su área de distribución. En algunas situaciones esto puede ser relativamente fácil. Por ejemplo, un evento de mortalidad de ranas en un pequeño lago aislado de los Alpes. Otras veces puede ser mucho más difícil (por ejemplo, la mortandad de ciervos de cola blanca debida a una enfermedad hemorrágica epizoótica). En este último caso, para evaluar rigurosamente la extensión espacial de la mortandad, puede ser necesario realizar un censo o un muestreo probabilística de lugares geográficos, ya que el brote no se limita a un único lugar. Las consideraciones de muestreo geográfico también pueden surgir cuando un brote se produce en una unidad discreta (por ejemplo, un lago), pero la unidad es demasiado grande para realizar un estudio completo de los individuos muertos. En esta situación, el muestreo probabilístico también es importante para poder hacer inferencias sobre el evento en su totalidad.

El primer paso para llevar a cabo el muestreo de unidades geográficas es definir la extensión espacial de interés. Esto es análogo a la definición de la población para el muestreo de animales individuales descrita anteriormente, y se aplica la misma justificación. Una vez definida la extensión espacial, el siguiente paso es determinar si se estudiará toda la extensión espacial o será necesario

[16] https://epitools.ausvet.com.au/?page=home

muestrearla. Por último, si es necesario llevar a cabo el muestreo, se debe decidir si la extensión espacial se agregará (por ejemplo, dividida en celdas de cuadrícula discretas) y el método de agregación (por ejemplo, cuadrícula de celdas de igual tamaño) o se tratará como una superficie continua. La agregación es el enfoque más común y será el principal foco de nuestra discusión. Una vez contestadas estas preguntas de diseño, se puede crear un diseño de muestreo. En general, estos diseños pueden considerarse como diseños de muestreo de una o dos etapas. En primer lugar, se selecciona una muestra de unidades geográficas y, posteriormente, se realiza un censo (de una etapa) o una segunda muestra (es decir, de individuos; en dos etapas) dentro de las unidades geográficas seleccionadas. Hay muchos diseños probabilísticos que pueden utilizarse. Describiremos varias opciones comunes que se centran en la selección de unidades geográficas, pero pueden aplicarse procedimientos similares en la segunda etapa si los animales individuales no pueden ser muestreados completamente dentro de las unidades geográficas seleccionadas.

Muestro Aleatorio Simple. El diseño de muestreo probabilístico más sencillo consiste en extraer una muestra aleatoria[17]. Si los datos están agregados, esto puede lograrse asignando a cada celda de la cuadrícula una probabilidad igual de ser seleccionada. Se puede extraer una muestra aleatoria utilizando muchos programas informáticos. Por ejemplo, en Excel se pueden utilizar los siguientes pasos para seleccionar una muestra de tamaño “n” de “N” celdas de cuadrícula totales.

1. Abra una hoja de cálculo en Excel.
2. Cree una columna de números del 1 al N en la primera columna.
3. Inserte dos columnas vacías a la derecha de sus datos.
4. Escriba - RAND() en la primer celda vacía de la segunda columna.
5. Copie la fórmula Rand() y péguela en la segunda columna. Esto generará una columna de números aleatorios.
6. Resalte toda la segunda columna de números aleatorios y cópiela.
7. Pegue los valores aleatorios en la tercera columna utilizando "Pegado especial”, y la opción de sólo valores.
8. Ordene las 3 columnas en orden ascendente de los valores aleatorios de la columna 3.
9. Los números de la primera columna que se encuentran en las filas 1 a n representan las celdas de la cuadrícula a muestrear.

Si los datos se tratan como continuos, deben generarse "n” puntos aleatorios dentro de la extensión espacial. Existen varios paquetes de software especializados que facilitan esta tarea, incluido el programa estadístico R (descrito más adelante), así como muchos paquetes de software de Sistemas de Información Geográfica. Si la extensión espacial es rectangular, se puede utilizar el siguiente algoritmo en Excel:

1. Abra una hoja de cálculo en Excel.
2. Crear una columna de n números aleatorios en la primera columna, utilizando la función - RAND().

[17] En nuestros diseños de muestreo, realizaremos un muestreo sin reemplazo. Esto significa que una unidad geográfica sólo puede ser seleccionada una vez.

3. Resalte toda la primera columna de números aleatorios y cópiela.
4. Pegar/sobreescribir los valores aleatorios en la primera columna utilizando "Pegado especial", y la opción de sólo valores.
5. Determine los valores X e Y máximos y mínimos de su extensión espacial.
6. Calcula la diferencia entre los valores máximos y mínimos de X e Y.
7. En la primera celda de la segunda columna de la hoja de cálculo introduzca la siguiente fórmula A1*(Xdiff)+Xmin, donde Xdiff es la diferencia entre los valores X máximo y mínimo, y Xmin es el valor X mínimo de la extensión espacial.
8. Copie la fórmula por la columna 2 hasta llegar a la filan.
9. En la primera celda de la tercera columna de la hoja de cálculo, introduzca la siguiente fórmula A1*(Ydiff)+Ymin, donde Ydiff es la diferencia entre los valores Y máximo y mínimo, e Ymin es el valor Y mínimo de la extensión espacial.
10. Copie la fórmula hacia abajo en la columna 3 hasta llegar a la filan.
11. La columna 2 contiene ahora la coordenada X y la columna 3 la coordenada Y de las nubicaciones espaciales aleatorias dentro de la extensión espacial rectangular.

Muestro Aleatorio Estratificado. Una muestra aleatoria estratificada se utiliza cuando se desea una muestra aleatoria, pero hay varios estratos no superpuestos dentro de la extensión espacial que son importantes y afectan al brote de alguna manera. Generalmente, para emplear esta técnica se extraen muestras aleatorias independientes de igual tamaño; (es decir;

$\frac{n}{\#s}$) se extraen de cada estrato utilizando los procedimientos anteriores.

Por ejemplo, supongamos que dentro de nuestra extensión espacial tenemos estratos desarrollados por el hombre y no desarrollados, y que esperamos que haya menos animales en las regiones desarrolladas por el hombre. Podemos estar interesados en evaluar las diferencias de intensidad del brote entre estos estratos. En este caso, el muestreo aleatorio estratificado es un diseño de muestreo adecuado. Es importante tener en cuenta que hay varios medios posibles para asignar el tamaño de las muestras entre los estratos más allá de los tamaños de muestra iguales. Se debe consultar a un estadístico para asegurarse de que se aplican los diseños de muestreo óptimos.

Muestreo de probabilidad desigual. En los enfoques de muestreo anteriores, la probabilidad de que se seleccione una unidad geográfica o ubicación ha sido igual en todas las unidades o ubicaciones. Sin embargo, los diseños de muestreo de probabilidad desigual, con diferentes probabilidades de selección, también pueden ser apropiados y a menudo son preferibles en algunas situaciones. El muestreo de probabilidad desigual se utiliza cuando se dispone de información auxiliar para resolver el problema. Esta información puede utilizarse para mejorar (es decir, disminuir la variabilidad) nuestras estimaciones de las métricas de la enfermedad, o para aumentar nuestra probabilidad de detectar un patógeno si está presente en nuestra extensión espacial. Por ejemplo, supongamos que creemos que la probabilidad de detectar un patógeno está relacionada con la densidad del huésped en el paisaje. Además, tenemos estimaciones de densidad de huéspedes que varían espacialmente en nuestra extensión espacial de interés. Si tenemos nuestra extensión espacial agregada, podemos estimar la densidad de cada célula. Luego, podemos utilizar el método del tamaño acumulado para estimar la probabilidad de muestreo para cada celda de la cuadrícula. El procedimiento para generar probabilidades de muestreo y seleccionar las celdas de la cuadrícula utilizando esas probabilidades en Excel es el siguiente:

1. Abra una hoja de cálculo en Excel.
2. Cree una columna de números del 1 al N en la primera columna.
3. En la segunda columna, introduzca la estimación de la densidad del huésped para cada celda de la cuadrícula de 1 a N. Asegúrese de que la estimación de la densidad se corresponde con el número de la celda de la cuadrícula adyacente en la primera columna.
4. En la tercera columna, escriba la siguiente fórmula en la primera celda B1/suma(B1:BN)[18]. Esta es la probabilidad de muestreo.
5. En la primera celda de la cuarta columna introduzca la siguiente fórmula -C1.
6. En la segunda celda de la cuarta columna introduce la siguiente fórmula -SUMA($D1,C2).
7. Copie esta fórmula hasta la fila N.
8. En la primera celda de la quinta columna introduzca la siguiente fórmula -RAND().
9. Copie esta fórmula hasta la fila n.
10. Resalte toda la quinta columna de números aleatorios y cópiela.
11. Pegue los valores aleatorios en la sexta columna utilizando "Pegado especial" y la opción de sólo valores.
12. Determina la fila que contiene el mayor valor de la cuarta columna < el valor aleatorio de la primera celda de la sexta columna. Este número de fila es la primera celda de la cuadrícula seleccionada. Regístrela.
13. Encuentre la celda de la segunda columna que corresponde al número de fila seleccionado en el paso 12, y ponga el valor de esa celda a cero.
14. Ahora repita los pasos 12 y 13 hasta que se hayan seleccionado todas las celdas n de la cuadrícula. Tenga en cuenta que las celdas previamente seleccionadas y cuyos valores de densidad se han puesto a cero no están disponibles de nuevo para su selección.

Está claro que la selección de muestras mediante el procedimiento anterior sólo es posible cuando n es pequeño, ya que es un procedimiento lento y tedioso. En general, se pueden utilizar otros paquetes de software y son más eficientes. Presentamos un código sencillo que demuestra cómo seleccionar una muestra de probabilidad igual y desigual utilizando el programa estadístico de código abierto R[19]. Para este ejemplo de codificación, asumimos que se ha creado un archivo de valores separados por comas (.csv) que contiene los identificadores de las celdas de la cuadrícula en la columna 1, las estimaciones de densidad para cada celda en la segunda columna y las probabilidades de muestreo en la tercera columna (es decir, el archivo creado utilizando los pasos 1-4 anteriores).

[18] Sustituya N en la fórmula por el número total real de celdas.
[19] https://cran.r-project.org/

```
setwd("C:\\temp") #set the working directory
input<-read.csv("filename.csv") #import data in .csv format

output.equal<-sample(1:nrow(input),n,
        replace = FALSE, prob = NULL) #equal prob. sampling output.unequal<-
sample(1:nrow(input),n,
        replace = FALSE, prob = input[,3]) #unequal prob. sampling

output.equal #view results output.unequal #view results

write.csv(output.equal,"eql.csv") #write results to .csv file write.csv(output.unequal,"uneql.csv")
```

Está claro que es sencillo llevar a cabo estos procedimientos de muestreo utilizando el programa R. Otros paquetes de software también tienen capacidades similares.

Otro uso común de los diseños de muestreo de probabilidad desigual es utilizar la proximidad espacial de una celda de la cuadrícula a la ubicación de un sitio de brote conocido. De esta manera, las celdas de la cuadrícula cercanas al brote se muestrean con una alta probabilidad, y esa probabilidad disminuye a medida que aumenta la distancia del sitio.

Si la extensión espacial de interés no está agregada, se puede utilizar el muestreo de probabilidad desigual para generar ubicaciones geográficas; sin embargo, estas técnicas son más complicadas y se debe consultar a un estadístico. Por lo tanto, este tema no se abordará aquí.

Muestreo de conveniencia. Muestreo de conveniencia. El muestreo de conveniencia en las investigaciones de brotes es el tipo de muestreo más común, pero lamentablemente es el menos riguroso. El muestreo de conveniencia no se basa en una técnica probabilística para elegir las unidades geográficas o las ubicaciones, sino que los investigadores utilizan su propio juicio para decidir qué cuadrículas o ubicaciones se seleccionan. La decisión suele basarse en consideraciones logísticas, como la facilidad de acceso. Aunque este método de muestreo es el más fácil de aplicar, presenta varios problemas. En primer lugar, no es repetible, lo cual es un principio de las investigaciones científicas. En segundo lugar, puede crear muestras sesgadas que conduzcan a inferencias incorrectas. Por último, puede limitar en gran medida las inferencias que pueden hacerse a partir de los datos recogidos, a menos que se hagan suposiciones fuertes y generalmente inválidas. No recomendamos el muestreo de conveniencia y sugerimos que se utilice un esquema de muestreo probabilístico siempre que sea posible.

Tamaño de la Muestra. Determinar el tamaño necesario de la muestra cuando se incorporan consideraciones geográficas a los diseños de muestreo probabilístico puede ser complejo, ya que para un costo determinado existen compensaciones entre el número de unidades geográficas muestreadas y el número de individuos muestreados dentro de una unidad geográfica. En general, la siguiente información o una aproximación será mínimamente necesaria:

1. El nivel de precisión o de confianza deseado en la investigación.
2. Sensibilidad y especificidad de la prueba.
3. Costes asociados al muestreo de unidades geográficas y animales individuales.
4. Variabilidad entre unidades geográficas.
5. Variabilidad entre animales individuales dentro de las unidades geográficas.

Para los diseños de muestreo de una etapa, se pueden utilizar las herramientas utilizadas para determinar el tamaño de las muestras para los individuos de un solo sitio, como se ha descrito anteriormente. Además, AusVet proporciona algunas herramientas para calcular el tamaño de las muestras cuando el objetivo es demostrar la ausencia de una enfermedad/patógeno utilizando un diseño de dos etapas. Las herramientas están configuradas para el muestreo de individuos en múltiples rebaños, pero también pueden utilizarse para el muestreo de unidades geográficas reconociendo que las unidades geográficas pueden utilizarse en lugar de rebaños individuales.

Sin embargo, en general, cuando se utilicen diseños de muestreo en dos etapas para estimar las métricas de intensidad de la enfermedad durante las investigaciones de brotes, será necesario consultar a un estadístico porque los tamaños de muestra requeridos de las unidades geográficas y de los animales individuales dentro de las unidades requerirán el cálculo de las variaciones y a menudo serán un problema de optimización informática. En concreto, para encontrar la solución óptima puede ser necesario escribir un código informático personalizado para maximizar la precisión y minimizar los costes, y tendrá que adaptarse a cada investigación de brotes.

VII. Consideraciones Varias

Otra consideración adicional que debemos tener en cuenta durante las investigaciones de brotes, es el hecho de que múltiples patógenos y múltiples especies pueden estar involucrados en el brote. A menudo, se aíslan múltiples patógenos de los especímenes durante un brote, y algunos pueden ser comensales. Esto introduce una capa de complejidad añadida cuando el objetivo es establecer un factor causal. En estos casos, técnicas como la histopatología pueden ser particularmente útiles para ayudar a eliminar algunos patógenos como responsables de la morbilidad o la mortalidad. También hay que reconocer que ningún patógeno puede ser el único responsable, sino que puede ser la coinfección de múltiples patógenos lo que finalmente haya dado lugar a un brote. En este último caso, puede ser necesario establecer un diseño del estudio que incluya la recogida y el muestreo de individuos sanos de la misma región geográfica para permitir la modelización del riesgo de morbilidad/mortalidad en función de la flora microbiana.

La multiplicidad de especies también aumenta la complejidad del diseño del estudio. Esto es particularmente cierto en los casos de grandes brotes aviares donde se mezclan varias especies y son susceptibles de contaminación entre especies. En estos casos, es fundamental establecer cuál es la población de interés antes de iniciar una investigación. Por ejemplo, ¿la población de interés son todas las especies implicadas o se trata de cada especie por separado? La respuesta a esta pregunta determinará si los aspectos del diseño de los estudios descritos deben aplicarse individualmente o en todas las especies implicadas.

VIII. Recursos Adicionales

BRUNDSON, C., y L. COMBER. 2015. An introduction to R for spatial analysisandmapping. Sage Publications Ltd., London, United Kingdom.

FRANSON, J.C., FRIEND, M., GIBBS, S.E.J., y WILD, M.A., eds., 2015, Field manual of wildlife diseases: U.S. Geological Survey Techniques and Methods 15, variously paginated, http://dx.doi.org/10.3133/tm15. ISSN 2330-7055 (http://pubs.usgs.gov/tm/15/)

LOHR, S. L. 1999. Sampling: design and analysis. Brooks/Cole Publishing Company, Pacific Grove, CA, USA.

SLEEMAN, J. M., BRAND, C. J. & WRIGHT, S. D. 2012. Strategies for wildlife disease surveillance. In: New

Directions in Conservation Medicine (eds.) Aguirre, A. A., Ostfeld, R. S, & Daszak, P. Oxford University Press, Oxford. Pp. 539-551.

WOBESER, G. A. 2007. Investigation and Management of Disease in Wild Animals. Springer.

WOBESER, G. A. 2006. Essentials of Disease in Wild Animals. Blackwell Publishing.

Organización Mundial de Sanidad Animal. 2010. Manual de Formación sobre las Enfermedades y Vigilancia de los Animales Salvajes. https://rramericas.woah.org/wpcontent/uploads/2021/09/e_training_manual_wildlife_1stcycle.pdf

Organización Mundial de Sanidad Animal. 2015. Manual de Formación sobre la Vigilancia y la declaración Internacional de las Enfermedades de los Animales Silvestres. https://www.woah.org/app/uploads/2022/03/e-training-manual-2b0cycle.pdf

IX. Ejercicios

Investigación de brotes de la fauna salvaje en el "Dominio de Atlantis".
(Nota: Este país no existe)

Escenario

Usted es el principal epidemiólogo de la fauna salvaje para el Ministerio de Sanidad en Dominio de Atlantis.

Ha recibido un informe de una civil, sobre el hallazgo de 5 animales muertos en su propiedad. No está segura de la especie, pero cree que se trata de un tipo de antílope. La civil encontró los animales muertos mientras recorría el perímetro de su propiedad en un vehículo todoterreno esa mañana. No vio ningún signo evidente de traumatismo y desconoce que haya grandes depredadores en la zona. Está muy disgustada por los animales muertos y quiere que alguien venga a retirarlos y a averiguar qué ha pasado. La civil también le informa que tiene previsto llamar a los medios de comunicación locales para informarles.

Usted toma nota de la información tan rápido como puede, y toma sus datos de contacto y ubicación.

Una hora después del primer llamado telefónico, la radio local publica una noticia sobre los hallazgos en la primera ubicación y llega otro informe de un profesor de ciencias jubilado que acaba de regresar de una excursión. Informa de una escena similar e inquietante que presenció durante su excursión en las regiones superiores de la Isla de Atlantis, donde encontró entre 10 y 12 antílopes muertos. El profesor recorre esta zona de 4 a 5 veces por semana, y con frecuencia ve animales en la zona. Está seguro de que no estaban muertos hace 48 horas. Se ofrece a ayudar a su equipo a encontrar la zona en cuestión, ya que está un poco alejada del camino principal. También se ofrece a ayudar en los trabajos que puedan ser necesarios.

Su oficina está ubicada en la capital de Atlantis, en la ciudad principal de Bigtown. En el Anexo A se ofrece información detallada sobre Atlantis, el antílope atlante y mapas para ayudar en este escenario.

Actividad

En pequeños grupos, revise el material sobre la investigación de brotes y los pasos necesarios para prepararse para responder al brote.

En los espacios que se proporcionan a continuación, esbocen lo que su grupo necesitaría para responder a este brote en las primeras 24 horas después de recibir el informe.

1. ¿Con qué personal se pondría en contacto para su respuesta? ¿Qué aspectos de logística está considerando al preparar su investigación inicial del brote? Discuta y priorice lo que necesitaría

para que su personal responda y lleve a cabo la investigación de un brote. Esta pregunta se aplica a los detalles de la movilización de su equipo.

2. ¿Cuáles son algunas de las consideraciones a la hora de prepararse para llevar a cabo la recopilación de muestras, la manipulación y las pruebas de laboratorio adecuadas?

3. ¿Cuál es su plan para la recolección de datos al momento de su llegada al lugar del brote?

4. Describa sus planes para el control inicial de la enfermedad en casi de que fuera necesario.

Ejercicio de entretenimiento con números - Ejercicio Individual que le brindará una oportunidad de entender mejor estos conceptos; complete las tablas con la información que figura a continuación.

Ejercicio A.

Usted está investigando la Muerte de 1.000 borregos cimarrones. Ha tomado muestras de cada animal de forma diligente y ha recogido 1.000 muestras de hisopos orofaríngeos. Sabe que la prevalencia real de M. ovipneumoniae es del 25% y que la sensibilidad de su prueba es del 80% y la especificidad del 90%. Con esta información, complete la siguiente tabla

		Estatus real de la infección			**Valores Predictivos**
		+	-	**Total**	
Resultados de la prueba de diagnóstico	+				
	-				
Total				1000	

Nota: Valor predictivo positivo = Número de animales infectados que son correctamente clasificados/Número total de animales que hayan resultado positivo en la prueba;

Valor predictivo negativo = Número de animales sanos correctamente clasificados/Número total de animales que hayan resultado negativo en la prueba.

Calcular la tasa de prevalencia aparente en este ejemplo.

Ejercicio B.

Ahora repita estos cálculos con una prevalencia real del 75% y se sabe que la sensibilidad de su prueba es del 80% y la especificidad del 90%.

		Estatus real de la infección			Valores Predictivos
		+	-	Total	
Resultados de la prueba de diagnóstico	+				
	-				
Total				1000	

Calcular la tasa de prevalencia aparente en este ejemplo.

Ejercicio C

Describa, con sus propias palabras, el efecto de la prevalencia real sobre las estimaciones de la prevalencia aparente y los valores predictivos basándose en los resultados de sus tablas en los ejercicios A y B.

Ejercicio Grupa l

Discuta con los miembros de su grupo cómo la información sobre la sensibilidad y especificidad de la prueba, y la prevalencia real puede ser útil para seleccionar pruebas de diagnóstico durante la investigación de un brote.

¿Se le ocurre algún medio para aumentar los valores predictivos de una prueba?

Escenario 2

Su investigación inicial del evento de mortalidad de antílopes descrito en el Escenario 1 indica que el antílope probablemente murió de algún tipo de enfermedad aguda. Debido al alto valor social asociado al antílope atlante, se le ha solicitado que realice una investigación "completa" del brote para la población de antílopes atlantes de la isla. En particular, su supervisor le indica que determine la extensión geográfica del brote en la isla. Sin embargo, agrega que los recursos son limitados y que no es posible inspeccionar toda la isla. En el Anexo A se ofrece información detallada sobre Atlantis, el antílope atlante y mapas para ayudar en este escenario.

Pregunta 1 (Grupal):

Establecer los objetivos de la investigación del brote.

¿Qué métrica(s) utilizará para caracterizar el brote de la enfermedad? ¿Por qué ha elegido esta(s) métrica(s)?

Pregunta 2 (Grupal):

En base a la información proporcionada, describa como llevará a cabo la recopilación de datos para determinar la extensión espacial del brote en la isla.

¿Cómo llevará a cabo el muestreo de las poblaciones de antílopes en Atlantis?

¿Por qué eligió este diseño de muestreo?

Pregunta 3 (Grupal):

Supongamos ahora que usted se enferma y no puede dirigir la investigación del brote. Su supervisor designó a un colega suyo para sustituirle durante su ausencia. Su colega decidió comprobar el estado de salud de las poblaciones de antílopes conduciendo por la ruta principal de Atlantis que recorre el exterior de la isla (véase el mapa de abajo). Cada vez que él y su equipo veían antílopes mientras atravesaban la autopista, se detenían y buscaban signos de morbilidad o mortalidad. Estos son los datos disponibles para determinar la extensión espacial del brote en los antílopes atlantes.

¿Qué tipo de diseño de muestreo utilizó su colega para determinar la extensión geográfica del brote?

Con estos datos, ¿qué aspectos conoce y cuáles desconoce sobre el alcance del brote en el antílope ***atlante?***

Pregunta 4 (individual):

¿Qué agencia(s), organización(es), universidad(es) o persona(s) puede(n) ser su principal punto de contacto para la recolección de muestras y las pruebas de diagnóstico? ¿Quién puede responderle: qué muestras recoger; cómo enviar las muestras; qué permisos son necesarios; qué laboratorios tienen los recursos adecuados?

Anexo A Dominio de Atlantis Información General

(Este pais no existe)

Taller del 4to Ciclo - 2016

El Dominio de Atlantis es una democracia parlamentaria con una economía capitalista.

1. Prácticamente autosuficiente en producción alimentaria, 10% de exportaciones compensadas por un 10% de importaciones.
2. Principales fuentes de riqueza:

   Productos agrícolas

   - Principales exportaciones: aves, queso, piel de visón de cría y vino
   - Las ovejas son especialmente importantes. Una antigua raza de ovejas fue llevada a la Atlántida por los vikingos en el siglo VIII a.C. y ha persistido en las islas Mallotus desde entonces. Tienen un vellón único de color amarillo oscuro que ahora tiene un gran valor comercial y producen de 4 a 6 corderos por oveja al año mientras pastan todo el año sin necesidad de alimentación suplementaria. También son mundialmente conocidas como raza lechera por la producción de exquisitos y únicos quesos de leche de oveja.
3. Productos silvícolas para exportación
4. Turismo
   - Observación de la fauna salvaje, entornos marítimos y forestales, caza y pesca
   - Poblaciones de fauna salvaje importantes para el turismo:
     - Antílope Atlante - 550
     - Ciervos coliblancos - 30,000
     - Alces - 2,000
     - Águilas calvas - 800
     - Osos negros - 3000
5. Cultivo comercial de productos del mar para exportación (pescados y mariscos)
6. Electricidad eólica y mareomotriz.

7. Banca (paraíso fiscal)

Ubicación: Isla del océano de Hibernia del norte (véase el mapa en la última página)

1. Población: 946,000 personas

- 30% rural
- 70% en centros urbanos

  * 43% en la capital Bigtown

2. Riqueza: renta media anual por familia: USD 30,000 ; Extensión: 56,000 km^2 (130 km x 560 km)

Clima: Nórdico templado

1. Temperatura media en Verano: +21 C
2. Media de las temperaturas máximas y mínimas anuales: -10 C a +28 C
3. Precipitaciones anuales: 1,500 mm, (300mm en forma de nieve en invierno)
4. Infraestructura Social:
   - Ministerios Nacionales/ Departamentos Relevantes:
   - Ministerio de Salud
     - Laboratorio medico en Bigtown
     - 16 hospitales regionales
   - Ministerio de Agricultura y Acuicultura
     - Laboratorio de diagnóstico veterinario en Epiville
     - 10 oficinas regionales
   - Ministerio de Recursos Naturales (Departamento de Pesca y Fauna Salvaje)
     - 18 oficinas regionales
   - Ministerio de Medio Ambiente (competencia sobre espacios naturales y parques nacionales)
     - 6 oficinas regionales
   - Ministerio de Recursos Oceánicos (competencia sobre los peces y mamíferos marinos)
     - 18 oficinas regionales
   - Ministerio de Turismo
     - Departamento de licencias de pesca, caza y guía de ecoturismo)

Gobierno Aborigen:

- Consejo de los Pobladores Originarios de Anguille – Gobierno para 20 000 personas aborígenes con control sobre todos los recursos comprendidos en un territorio de 5000 km2 de Atlantis, mayoritariamente adyacentes a parques y espacios naturales. Los derechos especiales de caza y pesca se extienden a todo el territorio.

Universidades:

- Universidad Nacional Harrison Lewis (20,000 estudiantes, Bigtown)
- Incluye la Escuela Veterinaria de Atlantis
- 6 universidades regionales pequeñas (de 500 a 400 estudiantes) distribuidas por todo el país.

Organizaciones no gubernamentales:

- Asociación Nacional Agropecuaria
- Club de Historia Natural de Atlantis (naturalistas)
- Asociación Nacional de Pesca y Caza (caza y pesca recreativa)
- Unión Nacional de Pescadores (Pesca comercial en el océano)
- Asociación de criadores de ovejas Golden Fleece

Calliope International (Asociación de defensa de los derechos y el bienestar de los animales)

Antilope Atlante. Información de la especie. El antílope atlante (*Antilocapra atlantia*) es una especie de antílope que sólo se conoce en la isla de Atlantis. Los machos pesan entre 88 y 140 libras (adultos), y las hembras pesan entre 75 y 110 libras (adultas). Los rasgos más notables de los machos son una mancha amarilla brillante en las mejillas, rodeadas de un anillo rojo, y unas marcas amarillas distintivas que adornan sus cuernos. Las hembras paren un solo cervatillo cada dos años durante el mes de abril. El antílope atlante es una especie diurna que pasa la mayor parte de las horas de luz buscando comida o descansando. Durante la noche, el antílope se acuesta en lugares muy cubiertos. Esta especie tiene una dieta variada y se alimenta de una gran variedad de hierbas y especies de ramoneo. Esta especie se mueve en manadas que se componen de grupos maternos. Los machos de un año son expulsados de la manada por la hembra matriarca antes del parto, y se dispersan por toda la isla.

Debido a su limitada distribución geográfica, el antílope atlante se considera una especie muy amenazada, y está incluido en la lista de especies protegidas por la CITES. Los antílopes están ampliamente distribuidos en toda su área de distribución en Atlantis; sin embargo, se encuentran con mayor abundancia en los parques provinciales y nacionales (polígonos claros y verdes en el mapa). Habitan una amplia gama de tipos de hábitat en la isla, desde los bosques costeros hasta las estepas de arbustos de salvia del centro de Atlantis.

Cada año, el Ministerio de Recursos Naturales realiza encuestas en toda la isla utilizando un sistema de cuadrícula. Enumeran el número de antílopes observados en cada cuadrícula. Los resultados de la encuesta de 2016 se muestran a continuación. Los recuentos recientes han mostrado una población creciente. Esta expansión de la población los ha puesto cada vez más en contacto con las ovejas domésticas, que a menudo se encuentran en libertad en la isla.

El antílope de Atlantis goza de gran prestigio entre los pueblos aborígenes y desempeña un papel destacado en su folclore y sus creencias religiosas. El antílope es también un símbolo de orgullo nacional porque Atlantis es el único lugar en el que habita, y turistas de todo el mundo acuden a contemplar esta especie en su área de distribución nativa.

Figura 1: Mapa de la Isla de Atlantis (verde claro indica parques provinciales; verde oscuro indica parques nacionales)

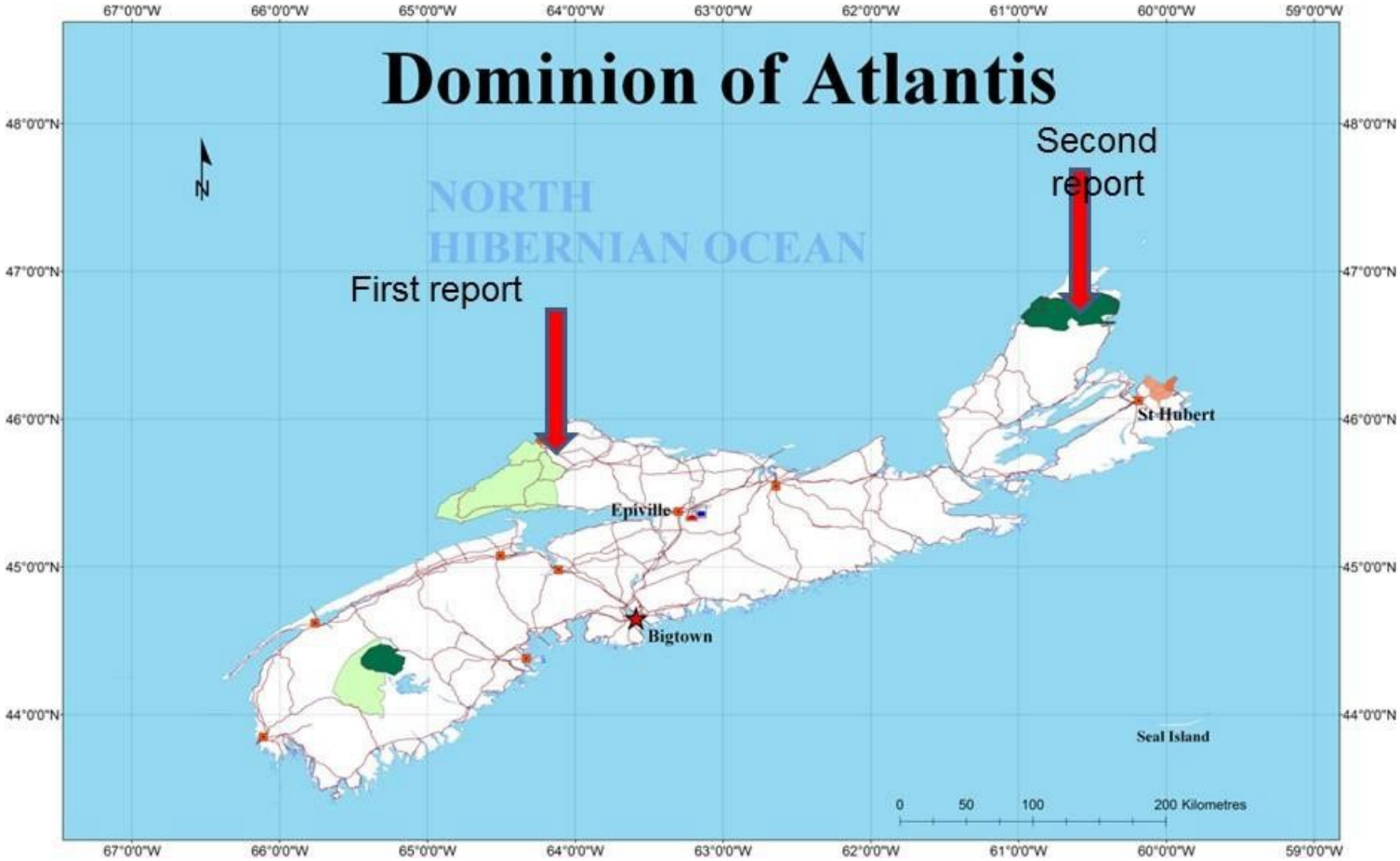


Figura 2: Información de la Encuesta Atlántica 2016.

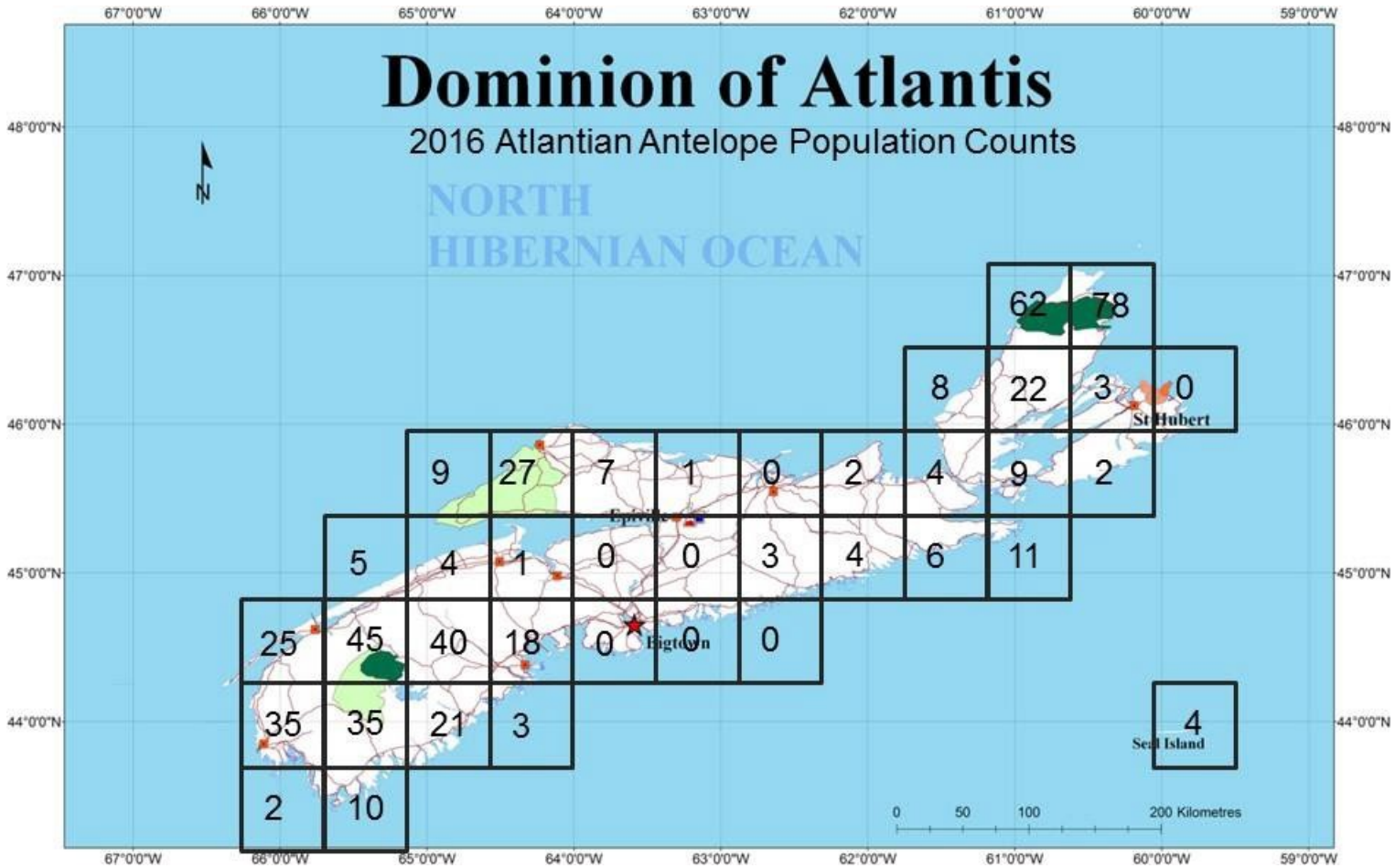


Figura 3: Mapa de la ruta de la encuesta para evaluar la salud de la población de antílopes.

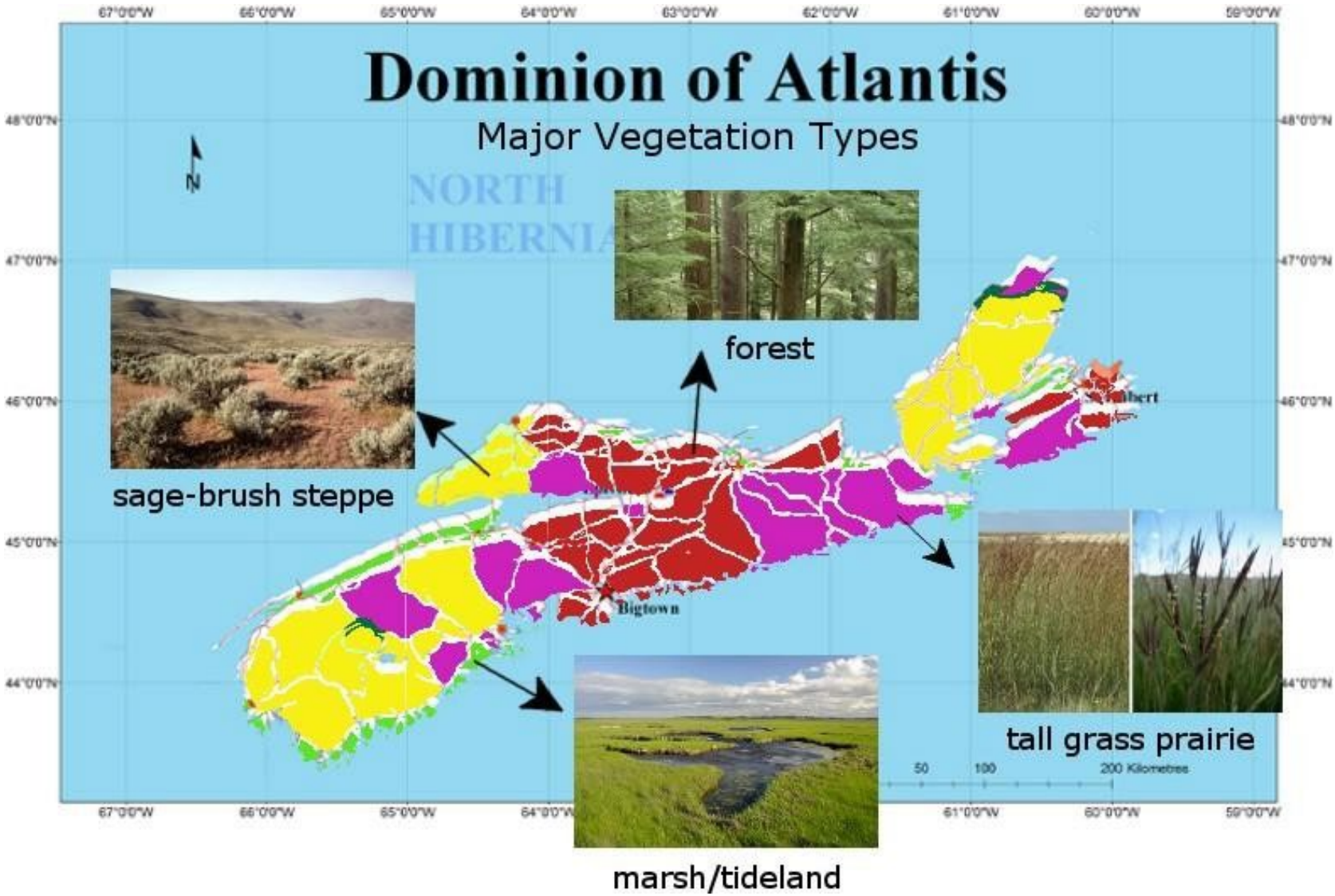


Figura 4: Mapa de la vegetación de Atlantis.

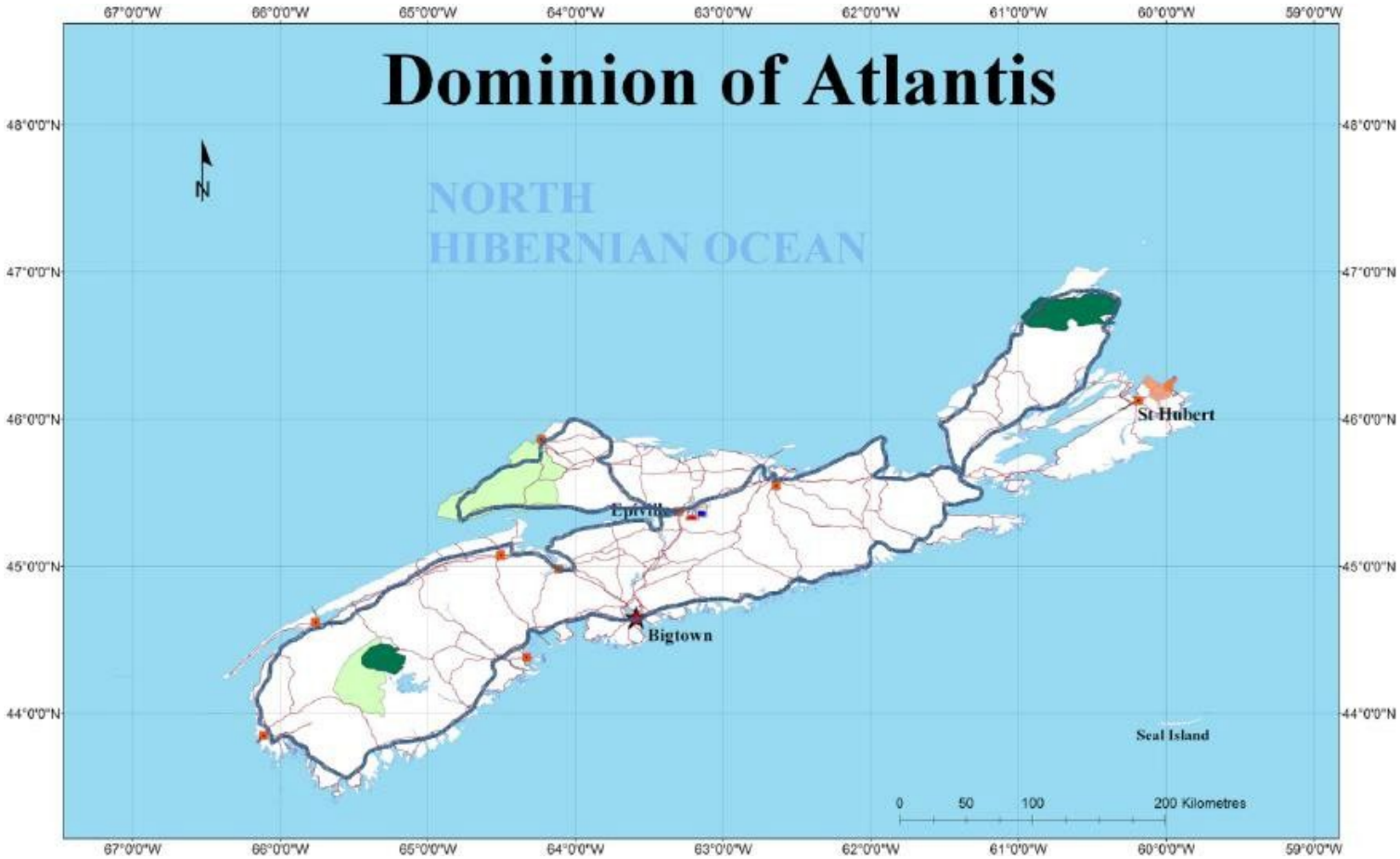


Figura 5: Mapa de la ruta de la encuesta para evaluar la salud de la población de Antílopes

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL • *Proteger a los animales, preservar nuestro futuro*
12 rue de Prony 75017 Paris Francia • tel.: 33(0)1 44 15 18 88 • fax: 33(0)1 42 67 09 87 • www.oie.int • oie@oie.int