

Curso de Capacitación

“ Doce (12) puntos de verificación para la vigilancia de enfermedades en organismos acuáticos: una nueva aproximación para asistir equipos multidisciplinarios en países en desarrollo ”



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Sesión 5. LISTA DE CHEQUEO 7

DISEÑO DE ESTUDIO Y MUESTREO

Ignacio de Blas

MV, PhD Epidemiología
Universidad de Zaragoza, España
deblas@unizar.es

Lista de chequeo 7.

Diseño de estudio y muestreo

- Descripción del diseño del estudio
- Definición del marco de muestreo
- Definición del proceso de selección de muestras (unidades, métodos, tamaño de muestra y material de muestreo)

Diseño del estudio

Actividades en cada vigilancia epidemiológica

- Determinar qué preguntas se están formulando y cómo es la mejor forma de responderlas
- Identificar la población objetivo
- Elegir el **diseño de encuesta adecuado**
- Preparar los cuestionarios y el formato de recolección de datos
- Decidir si la encuesta usará estratificación
- Calcular **el tamaño de muestra necesario**
- Planificar las actividades de campo
- Entrenar al equipo encuestador
- Conducir una encuesta piloto

Actividades en cada encuesta

Seleccionar la muestra

- Realizar el trabajo de campo
- Recopilar la información (productores y/o animales)
- Procesar las muestras listas para análisis
- Enviar las muestras al laboratorio
- Verificar que los datos estén completos y sean precisos
- Ingresar los datos de la encuesta y los resultados del laboratorio en una base de datos
- Verificar los datos en busca de errores durante el ingreso de datos
- Analizar los datos para calcular estimaciones
- Informar de los resultados

Aproximación al diseño del estudio

- **Vigilancia pasiva**
- **Vigilancia activa**
 - Encuestas para demostrar la ausencia de enfermedad
 - Encuestas de prevalencia
 - Encuestas de producción
 - Encuestas de incidencias
- **Vigilancia basada en el riesgo**

Encuestas

Estudios de investigación epidemiológica

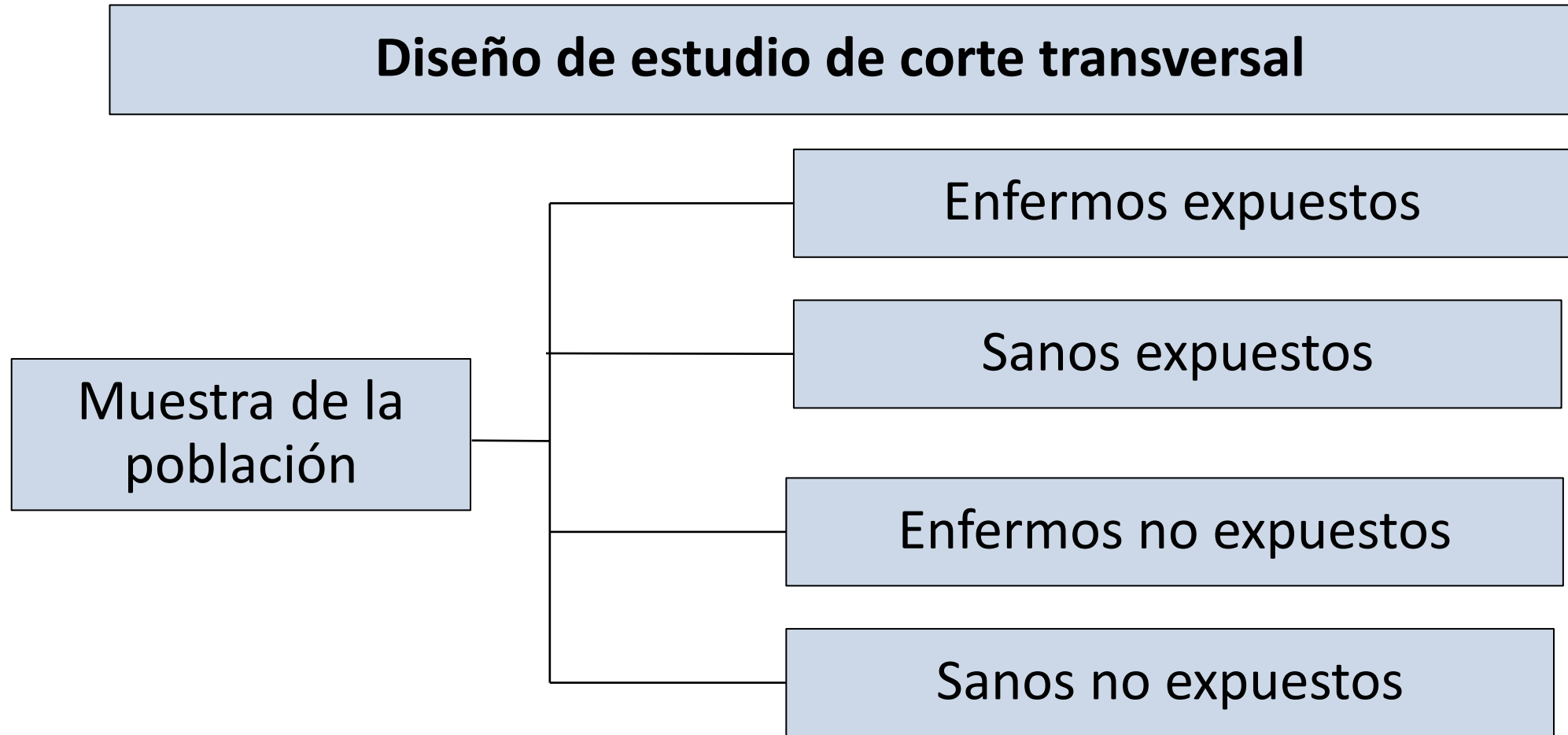
- Descriptivo y explicativo
- Experimental y observacional
- Corte transversal y longitudinal
- Retrospectiva y prospectiva
- Tipos: Transversal, Caso-control y Cohortes

Principales características de diferentes tipos de vigilancia

Estudios de corte transversal – estudios de prevalencia/investigación de brotes

- Útiles en condiciones comunes
- Marco de tiempo corto
- Bajo costo
- Bueno para múltiples enfermedades y factores de riesgo
- Miden presencia y/o prevalencia de enfermedad
- No miden incidencia de enfermedad
- Causalidad poco concluyente

Principales características de diferentes tipos de vigilancia

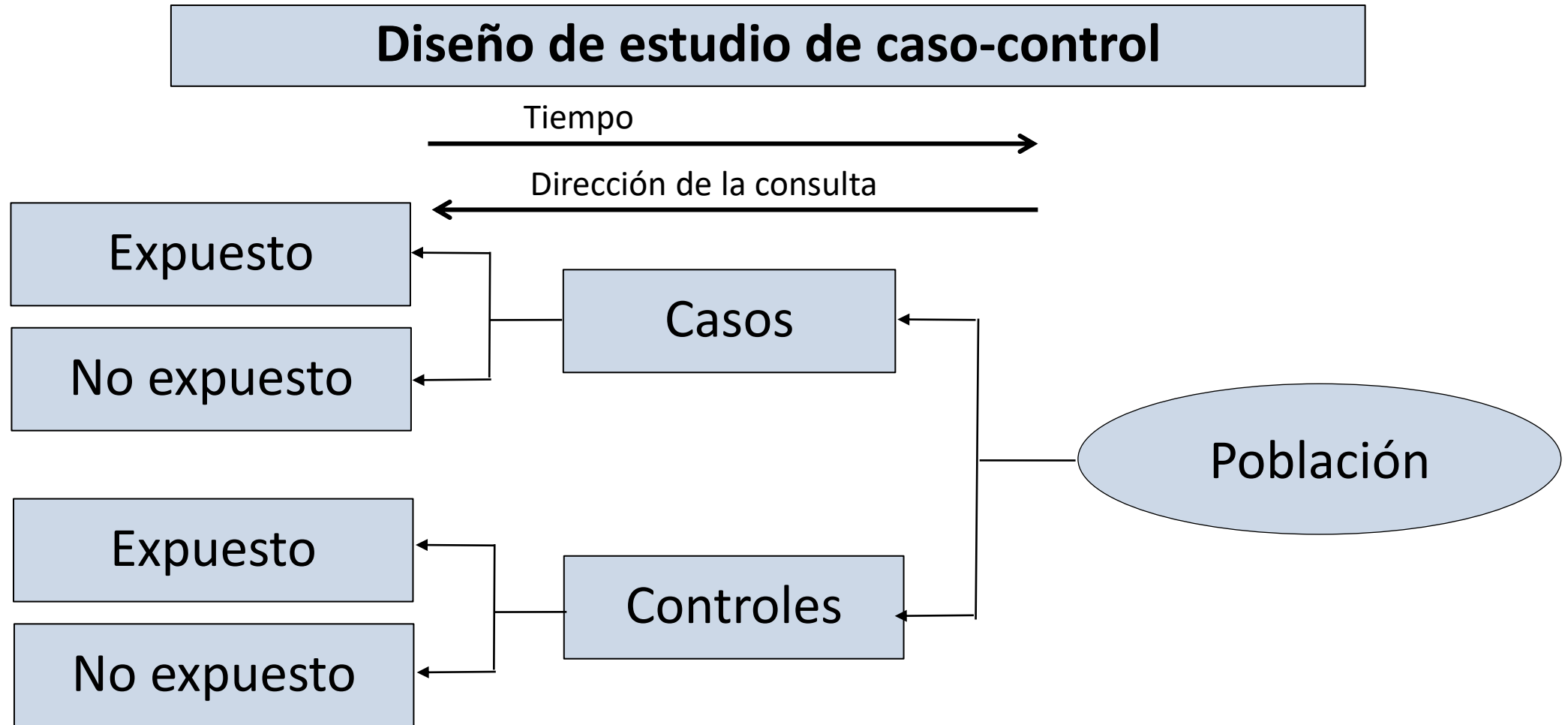


Principales características de diferentes tipos de vigilancia

Estudios de caso-control

- Agrupamiento de acuerdo con estatus de enfermedad
- Principalmente retrospectivo
- Útil para enfermedades raras
- Rápida realización, bajo costo y eficiente
- Bueno para múltiples factores de riesgo, no para múltiples enfermedades
- No representativo, propenso a sesgos: selección...
- No se puede calcular prevalencias ni incidencias

Principales características de diferentes tipos de vigilancia



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

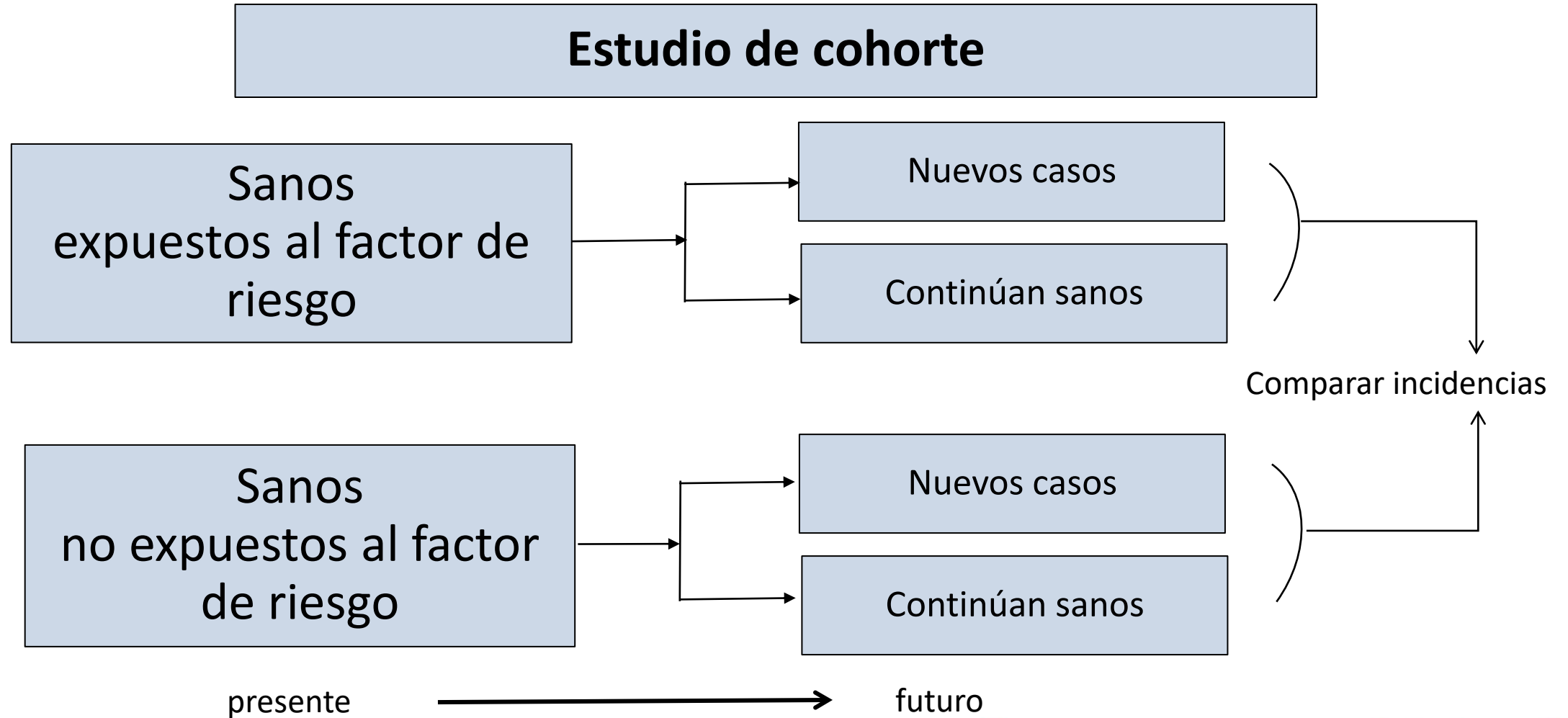


Principales características de diferentes tipos de vigilancia

Estudios de cohorte

- Agrupamiento de acuerdo con la exposición
- Principalmente prospectivo
- Útil para exposiciones raras y enfermedades letales
- Mucho tiempo y alto costo
- Bueno para múltiples factores y múltiples enfermedades
- Estimación directa del efecto (incidencia y RR)
- Mejor control de sesgos: memoria, supervivencia...
- Pérdida de participantes

Principales características de diferentes tipos de vigilancia



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Principales características de diferentes tipos de vigilancia

Vigilancia dirigida - vigilancia basada en el riesgo

- Más carga de enfermedad – menos recursos
- Combina epidemiología, salud pública, economía, consecuencias comerciales
- Busca la enfermedad donde se espera: evaluación de riesgos
- Mayor relación costo-beneficio
- Estimación de la eficacia!?

Muestreo

Muestreo

- Principios de muestreo
- Métodos de muestreo
- Tamaño de la muestra

Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

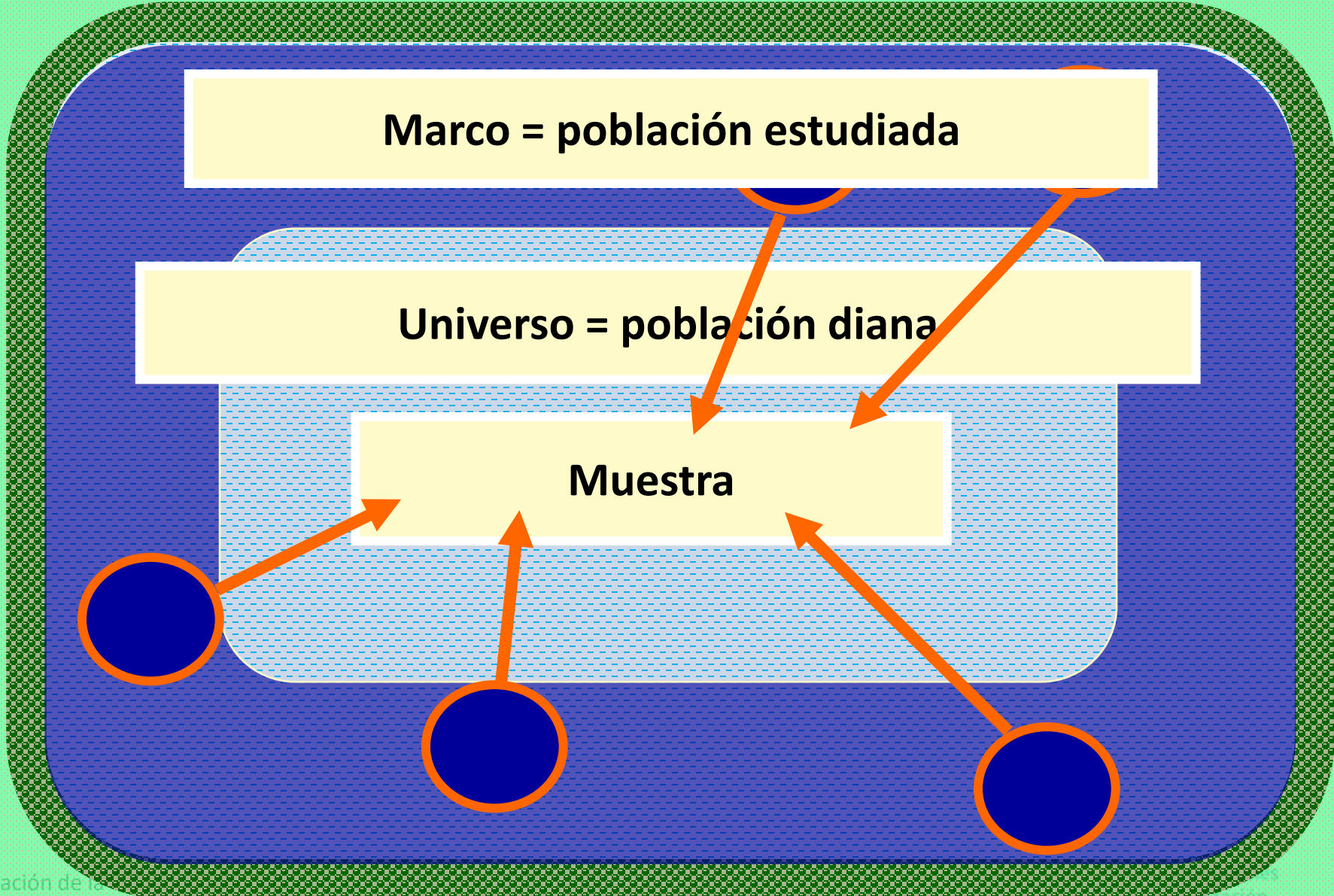




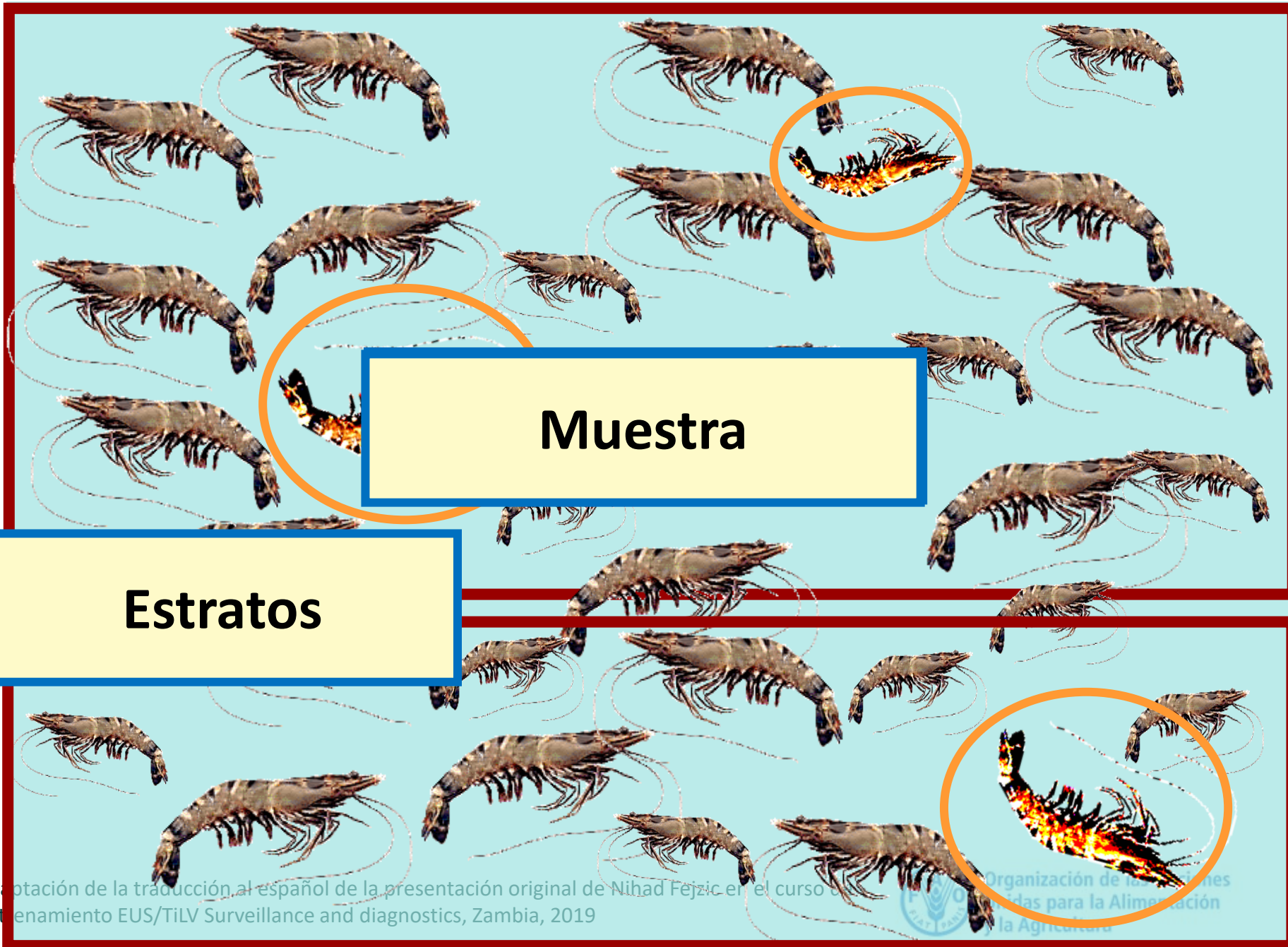
A
e



A
e



Adaptación de la metodología de diagnóstico y vigilancia
entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Estratos

Muestra

Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Muestreo

- **Método de muestreo**

- Evaluar toda la población – censo
- Evaluar una muestra (proveer la más alta probabilidad que la muestra será representativa de la población)
 - Representativa de la población
 - No representativa
- Poblaciones grandes – marco de muestreo no disponible – muestreo de varias etapas

Características de la muestra

Homogeneidad

Representatividad

Aleatoriedad

Tipos de errores y sesgos

Según mecanismo de producción

- Sesgos de selección
- Errores de medida
- Errores de información

Sesgos de selección

- Sesgo de autoselección
- Sesgo de supervivencia selectiva
- Sesgo de Berkson
- Sesgo de diagnóstico

Errores de medida

- Del instrumento de medida
- Del observador
- Del observado

Errores de información

- Errores de cobertura
- Errores de perjuicio
- Errores por falta de respuesta
- Errores en la clasificación
- Errores en el procesado de datos

Métodos de muestreo

- No probabilísticos



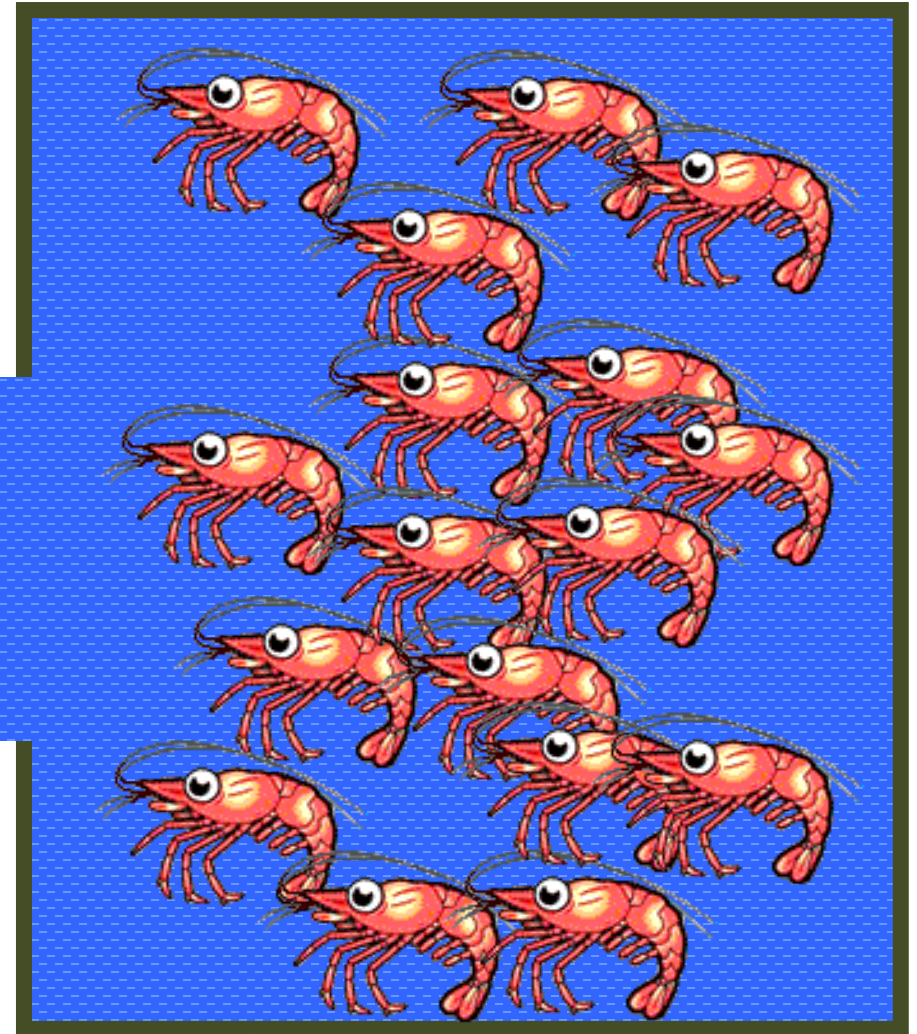
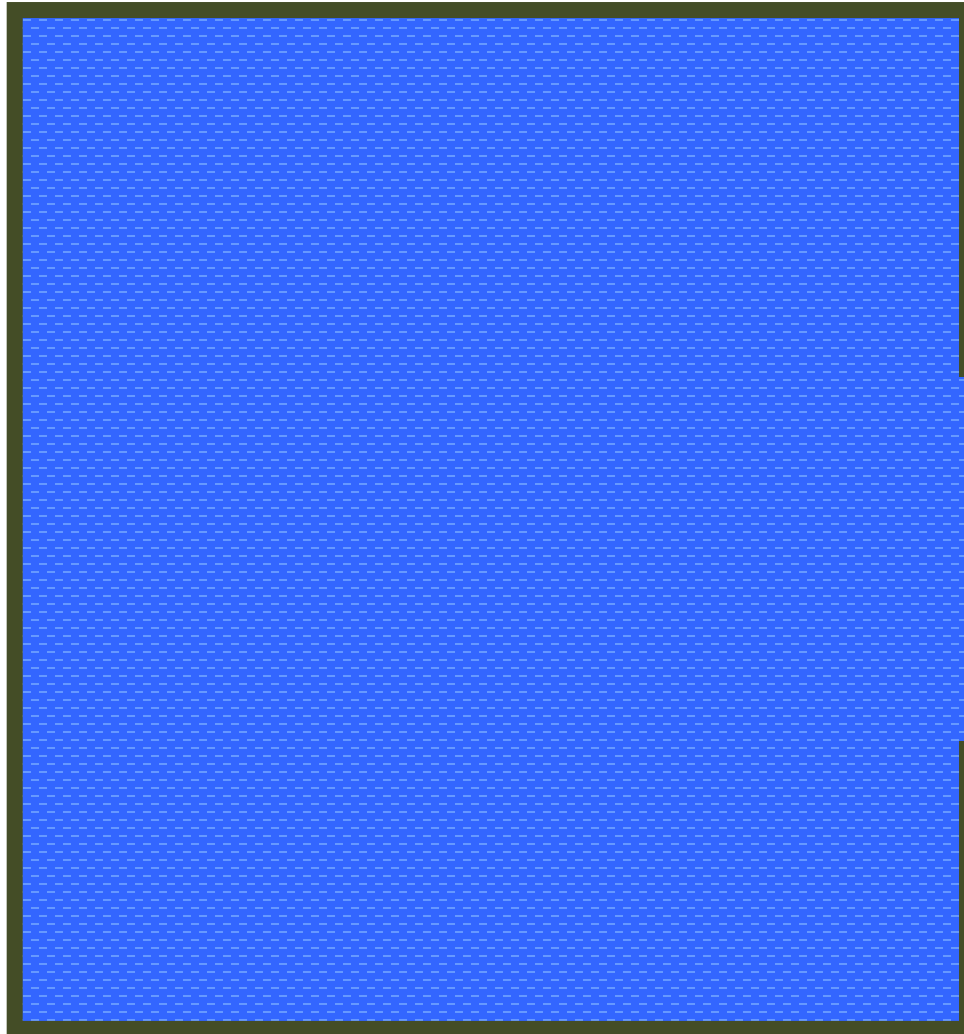
- Probabilísticos (aleatorios)



Muestreo no probabilístico (no representativo)

- Consecutivos o de bola de nieve
- Opináticos o basados en criterios subjetivos
- **Dirigidos o basados en criterios objetivos**
- Por cuotas
- **De conveniencia**
- De voluntarios

Muestreo consecutivo o bola de nieve



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

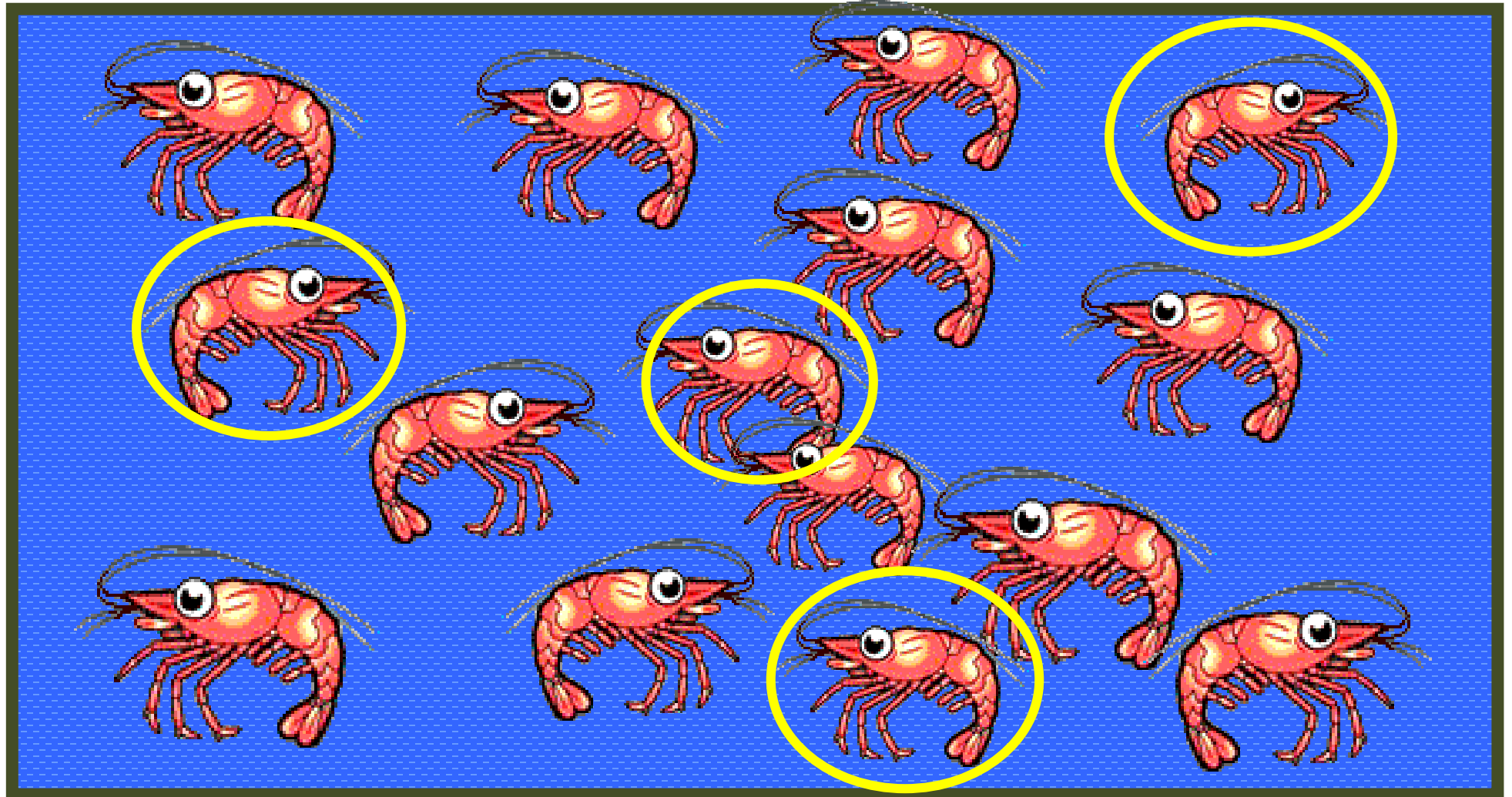


Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Muestreo opinático (criterios subjetivos)



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

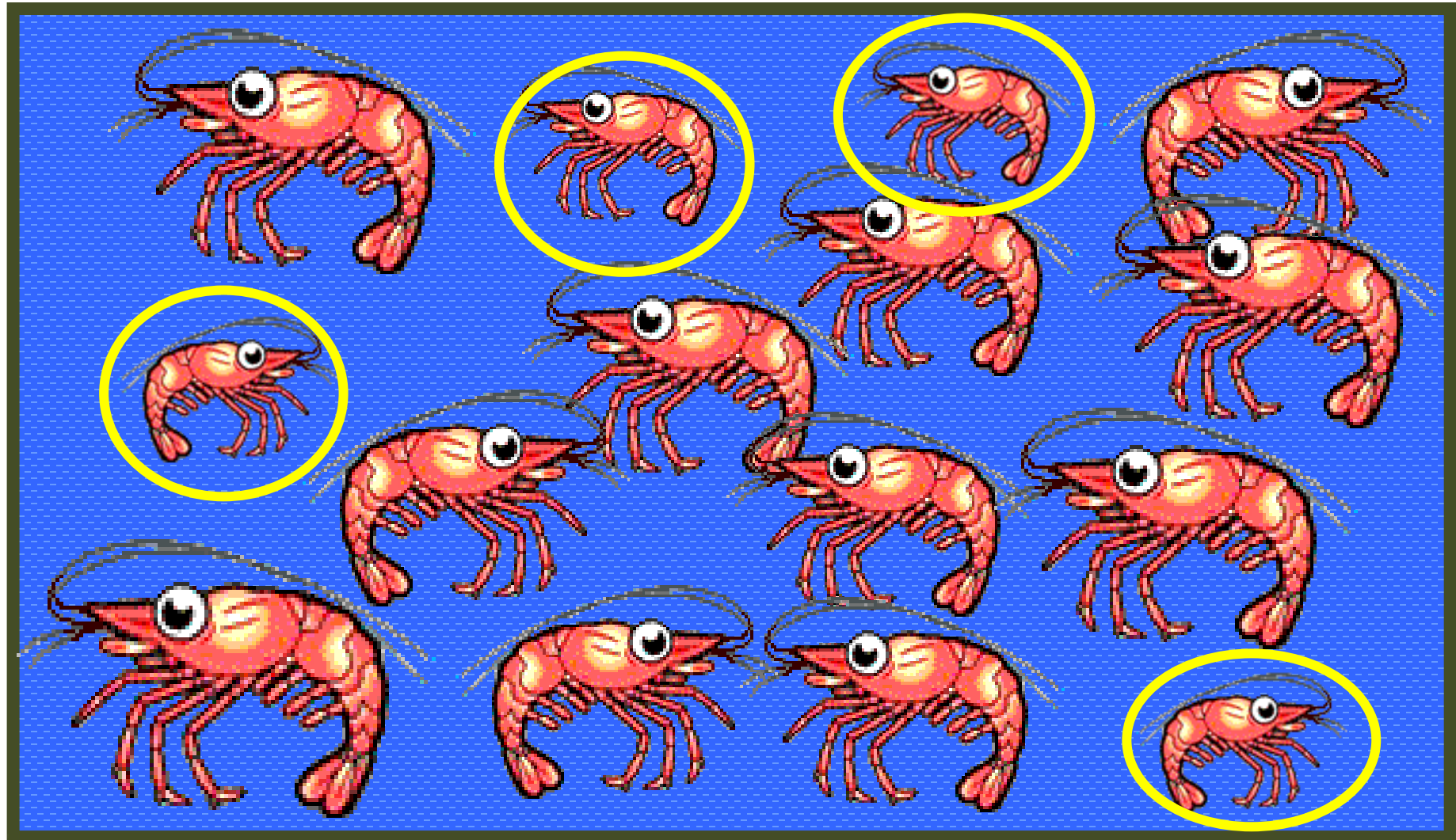


Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Muestreo dirigido o basado en criterios objetivos



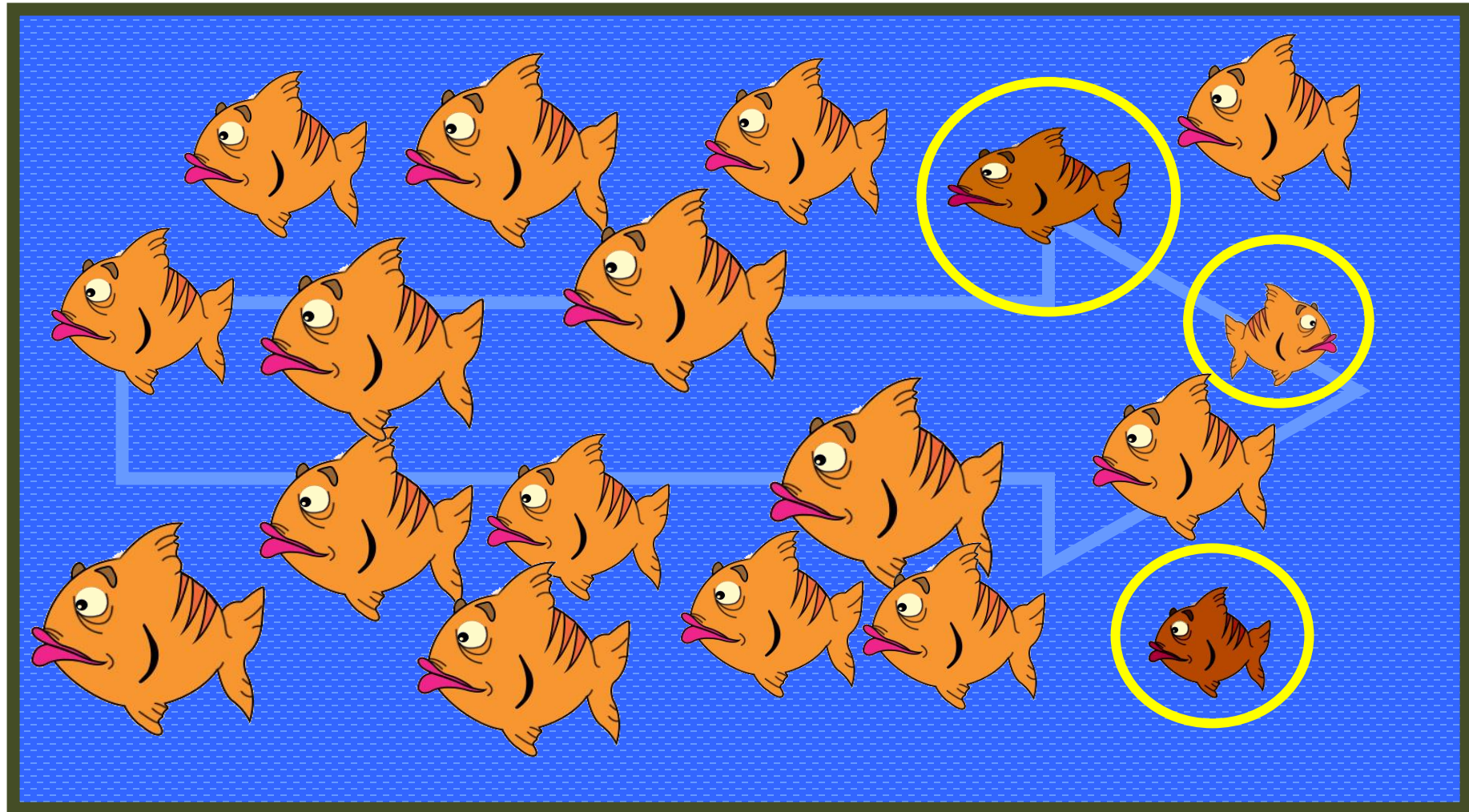
Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Muestreo dirigido o basado en criterios objetivos



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Muestreo dirigido o basado en criterios objetivos

Decisión 2001/183 de la Comisión Europea

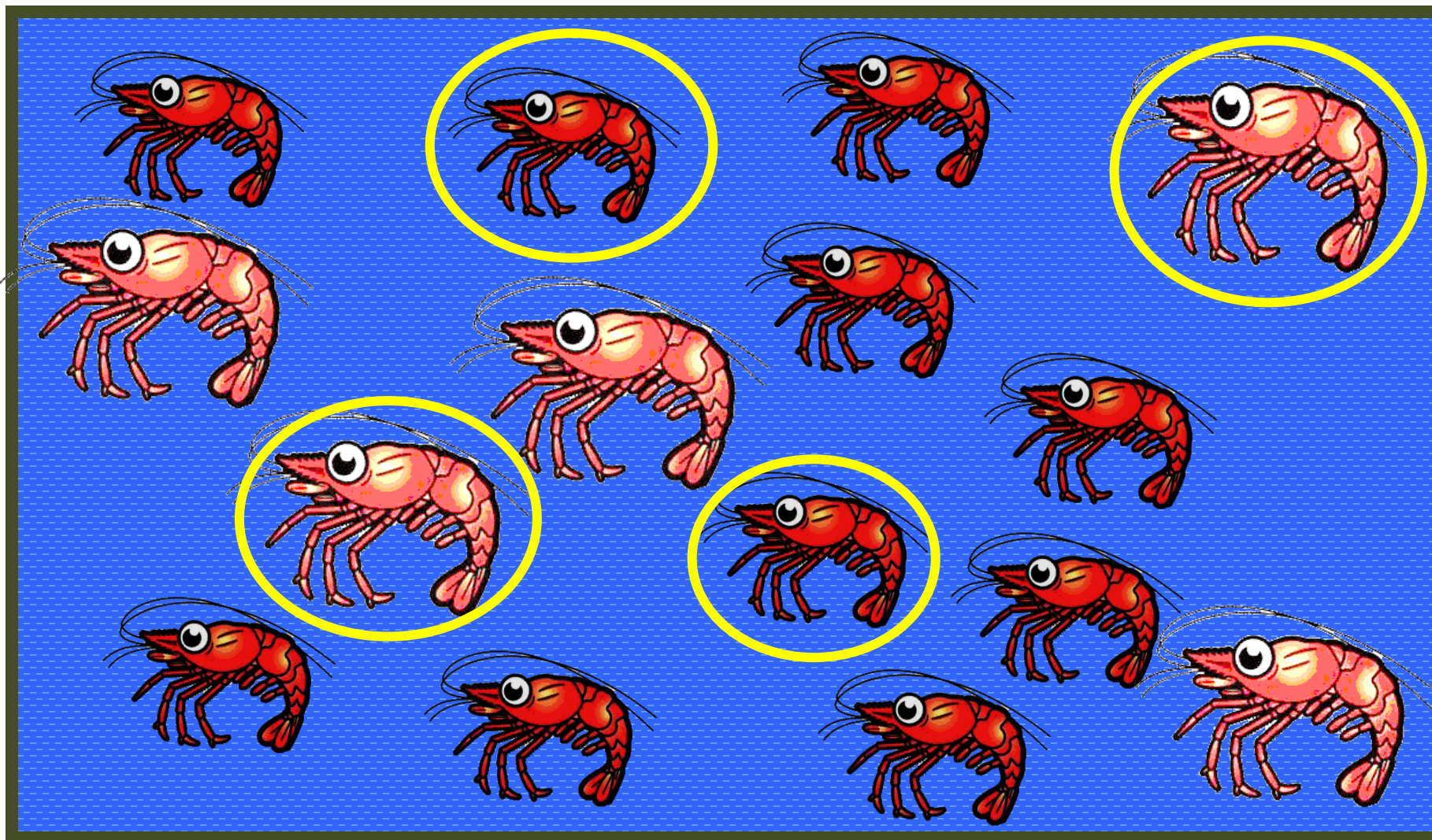
Para VHS e IHN:

Las inspecciones clínicas deberán efectuarse durante el período comprendido entre octubre y junio o siempre que la temperatura del agua esté por debajo de los 14°C.

Cuando las explotaciones deban ser inspeccionadas clínicamente dos veces al año, los intervalos entre ambas visitas deberán ser de un mínimo de cuatro meses.

Todas las unidades de producción (estanques, tanques, jaulas de red, etc.) deberán inspeccionarse para comprobar si hay peces muertos, débiles o que actúen de manera anormal. Deberá prestarse especial atención a la zona de desagüe, donde los peces débiles tienen tendencia a acumularse debido a la corriente de agua.

Muestreo por cuotas



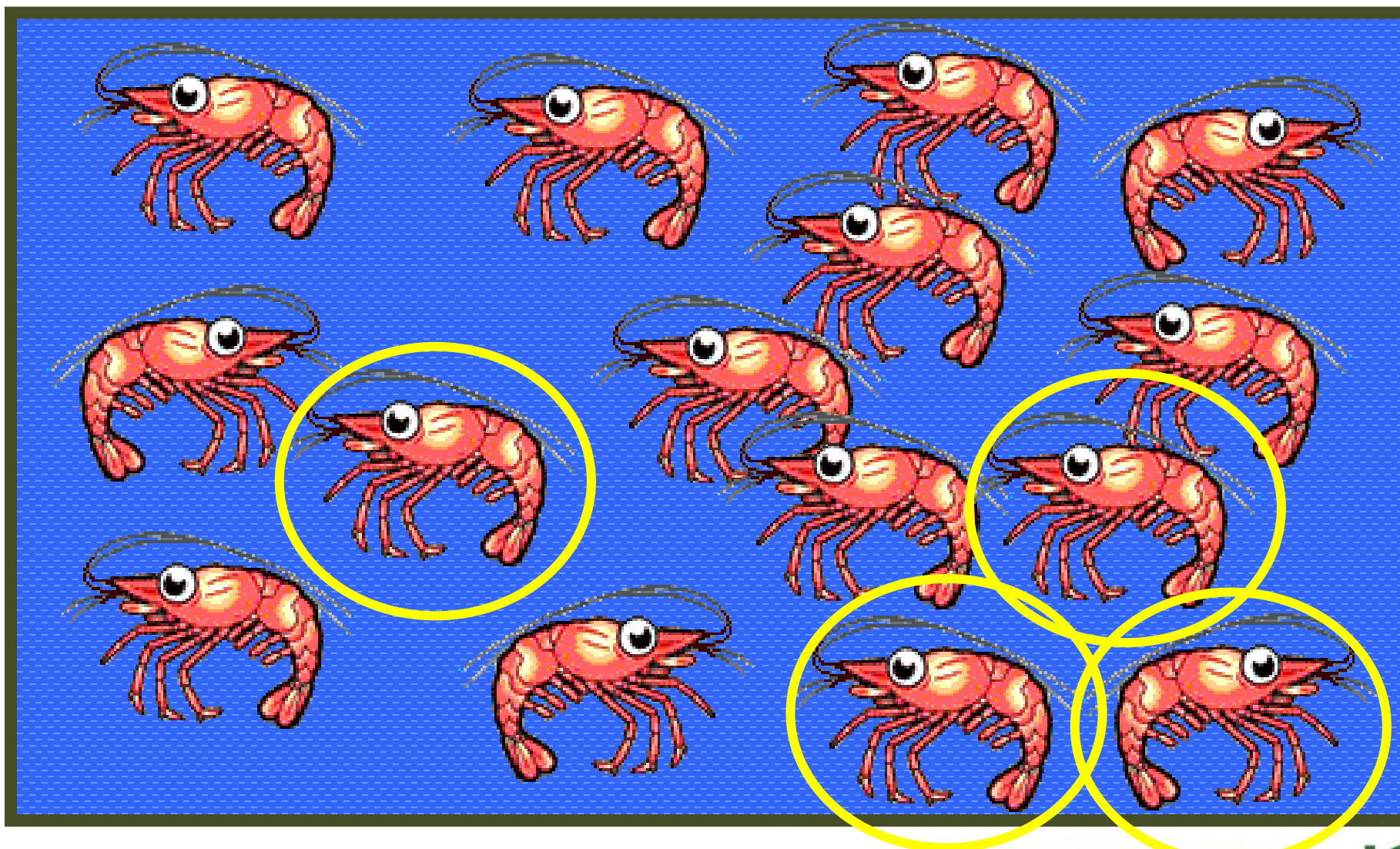
Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Muestreo de conveniencia



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

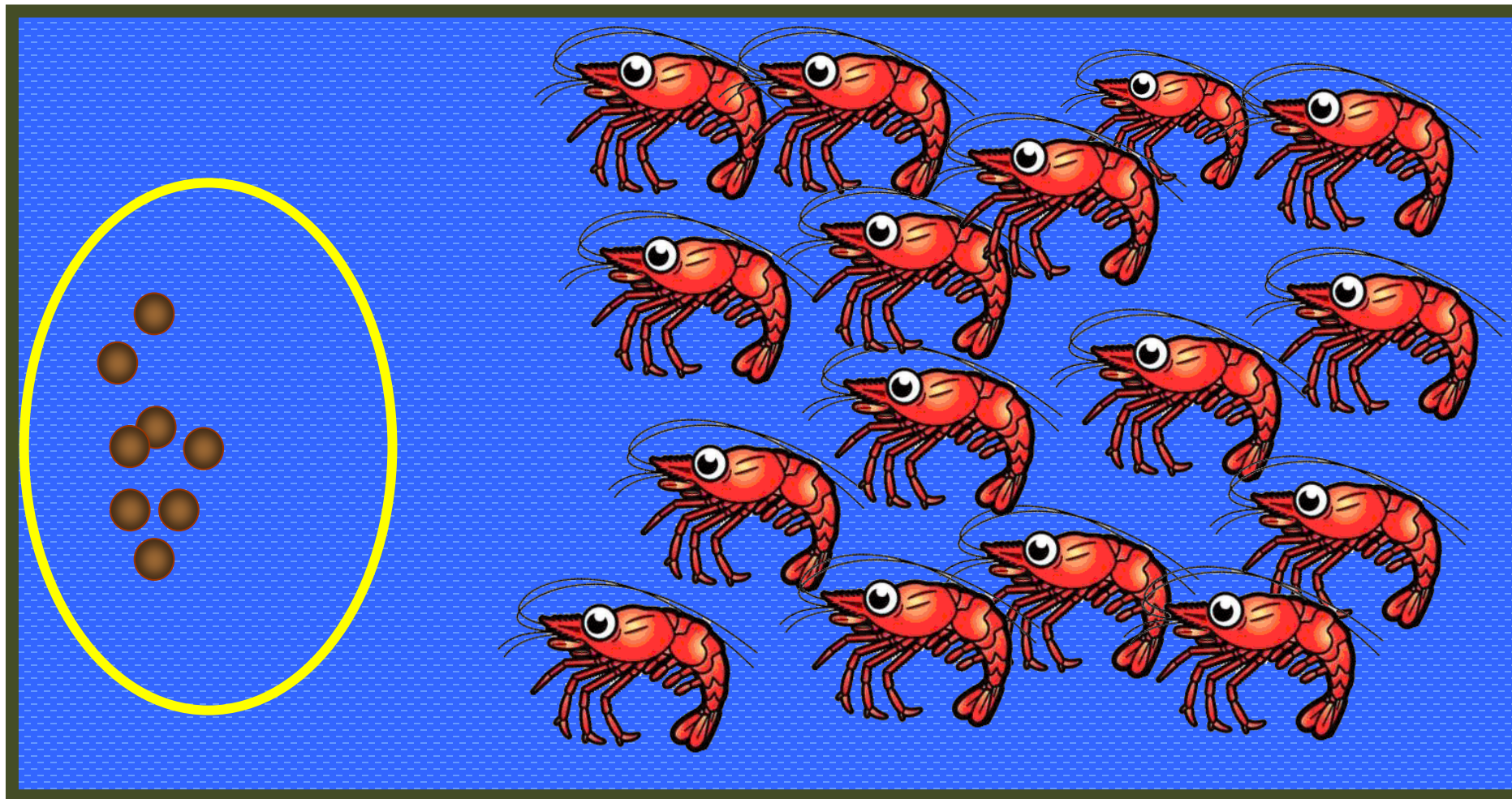


Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Muestreo de voluntarios



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Métodos de muestreo

- No probabilísticos



- Probabilísticos (aleatorios)



Muestreo probabilístico

- El muestreo aleatorio requiere un **marco muestral** (todos los individuos / unidades accesibles e identificadas)
- ¡¡ NADA ES ALEATORIO EN EL MUESTREO ALEATORIO!!
- Muestreo sistemático / espacial de uso alternativo
- Debería ser posible utilizar un marco de muestreo en la población de acuicultura para unidades epidemiológicas o superiores (lagos/granjas...)
- Para animales acuáticos individuales – sin marco de muestreo
- Usar cualquier método para alcanzar la selección aleatoria – documentado y descrito
- El muestreo de conveniencia nunca es aceptable

Muestreo probabilístico

- Muchos animales terrestres de granja son identificados por un número individual
- Marco de muestreo es animales acuáticos en diferente
- El muestreo al azar puede ser aplicado usando prácticas de manejo (durante muestreo de peso o transferencia de peces, durante vacunación, durante cosecha)
- Es el método más frecuentemente usado en granja es el muestreo por captura
- Es probable que introduzca algún sesgo en la muestra y es importante ser consciente de la dirección del sesgo

Identificación individual



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Identificación individual



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Características de la muestra

Homogeneidad

Representatividad

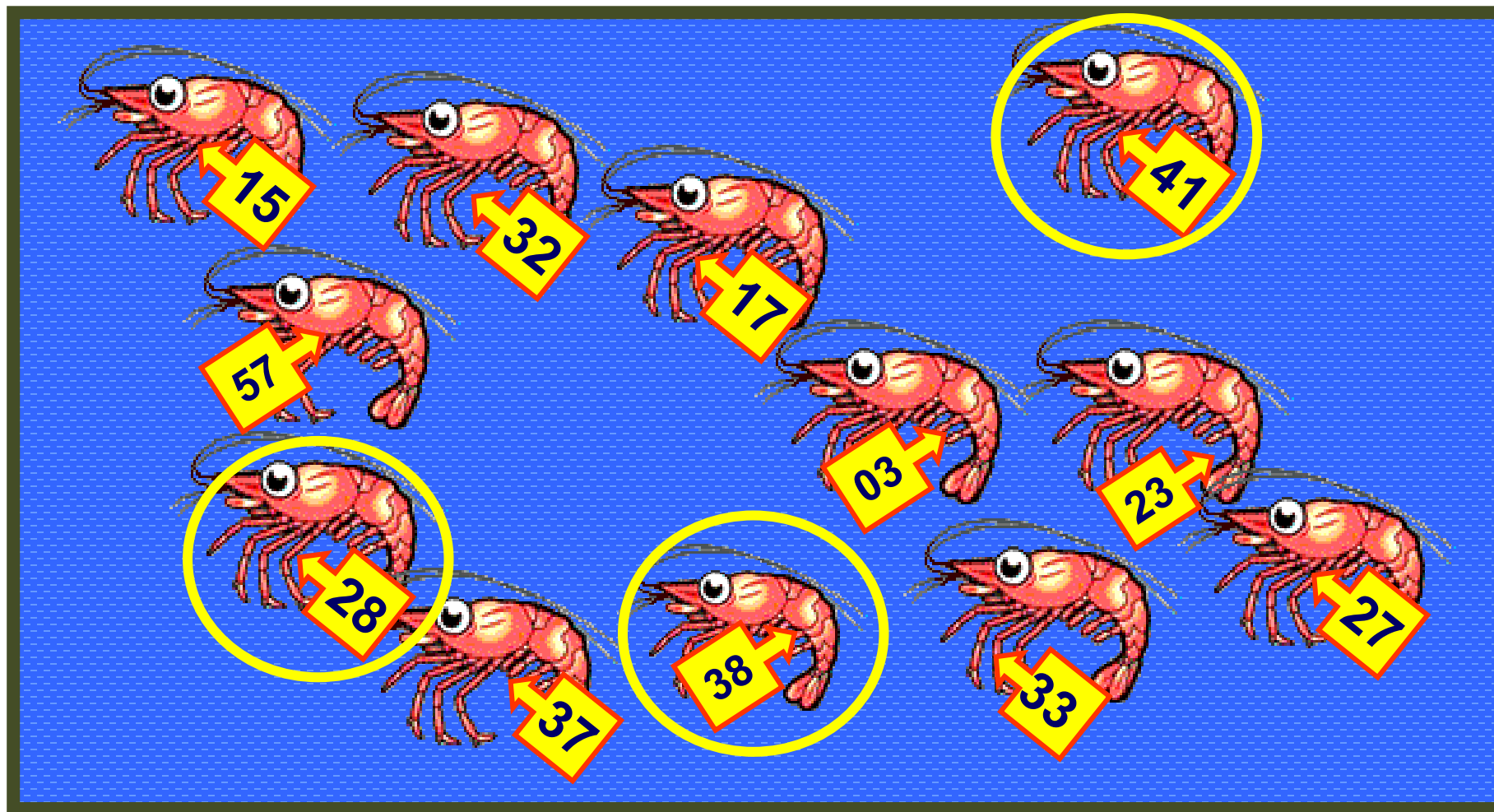
Aleatoriedad

Métodos probabilísticos

Muestreo representativo – cada individuo en la población tiene la misma e igual probabilidad siendo seleccionada en la muestra

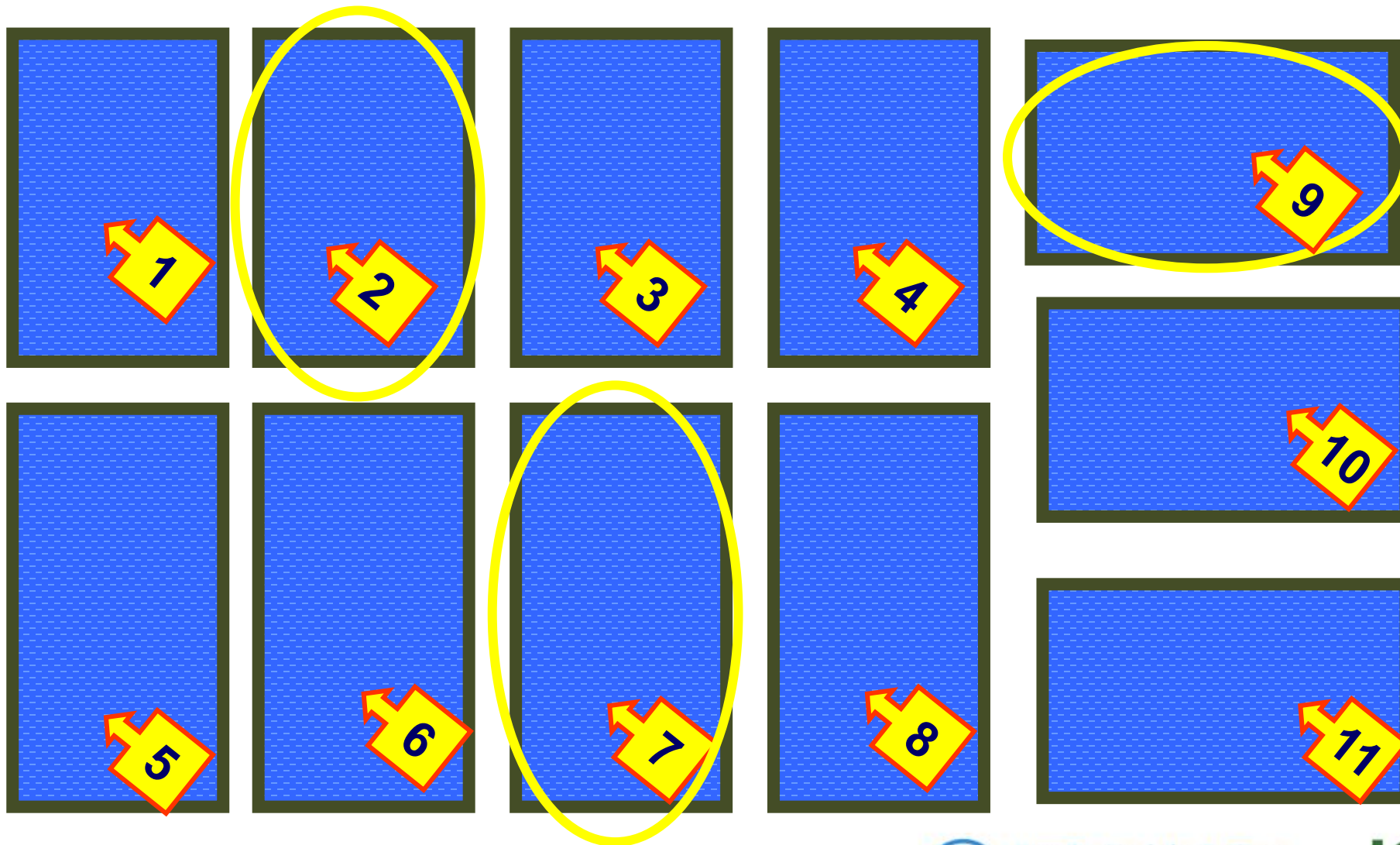
- **Muestreo simple o aleatorio puro**
- **Muestreo sistemático**
- Muestreo estratificado
- Muestreo de conglomerados (*clusters*)
- Muestreo multietápico

Muestreo aleatorio simple



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Muestreo aleatorio simple



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

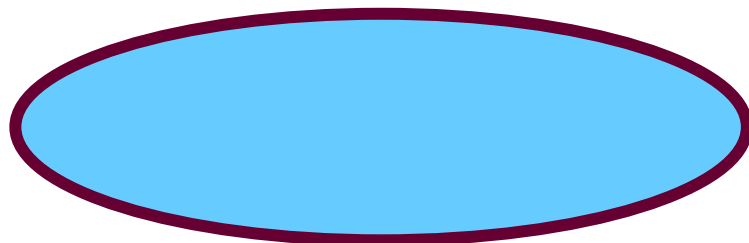
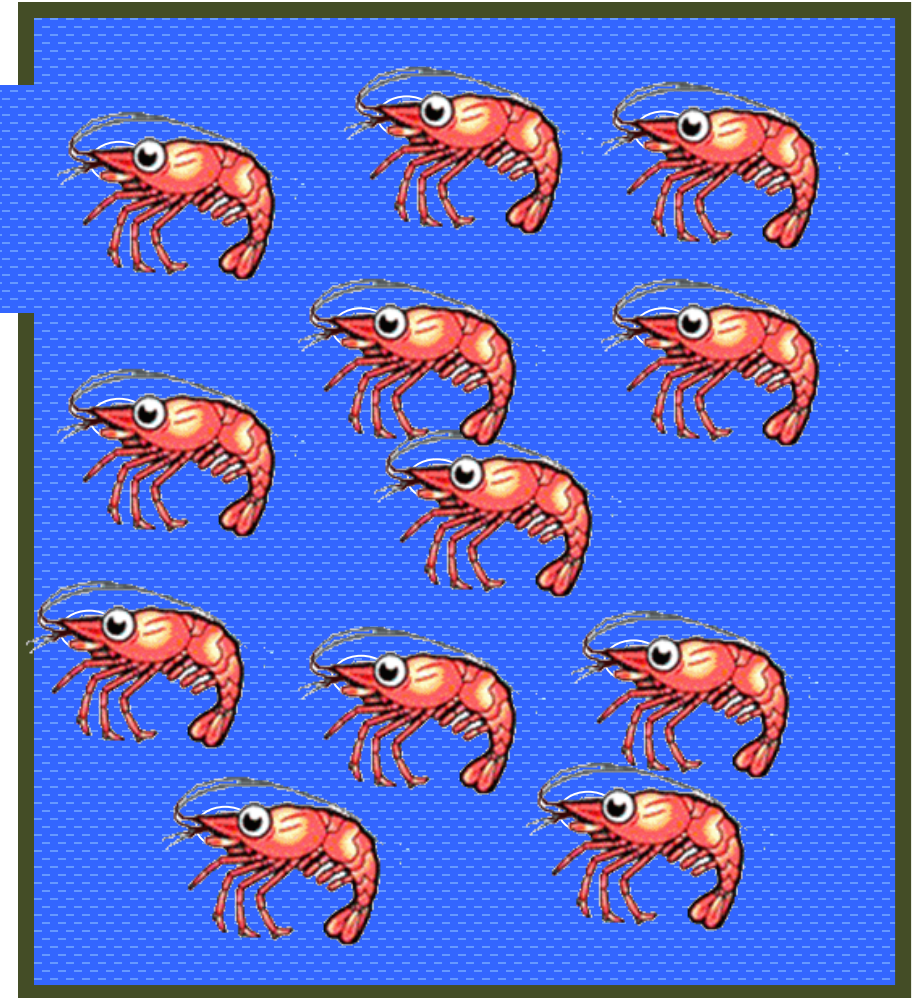


Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



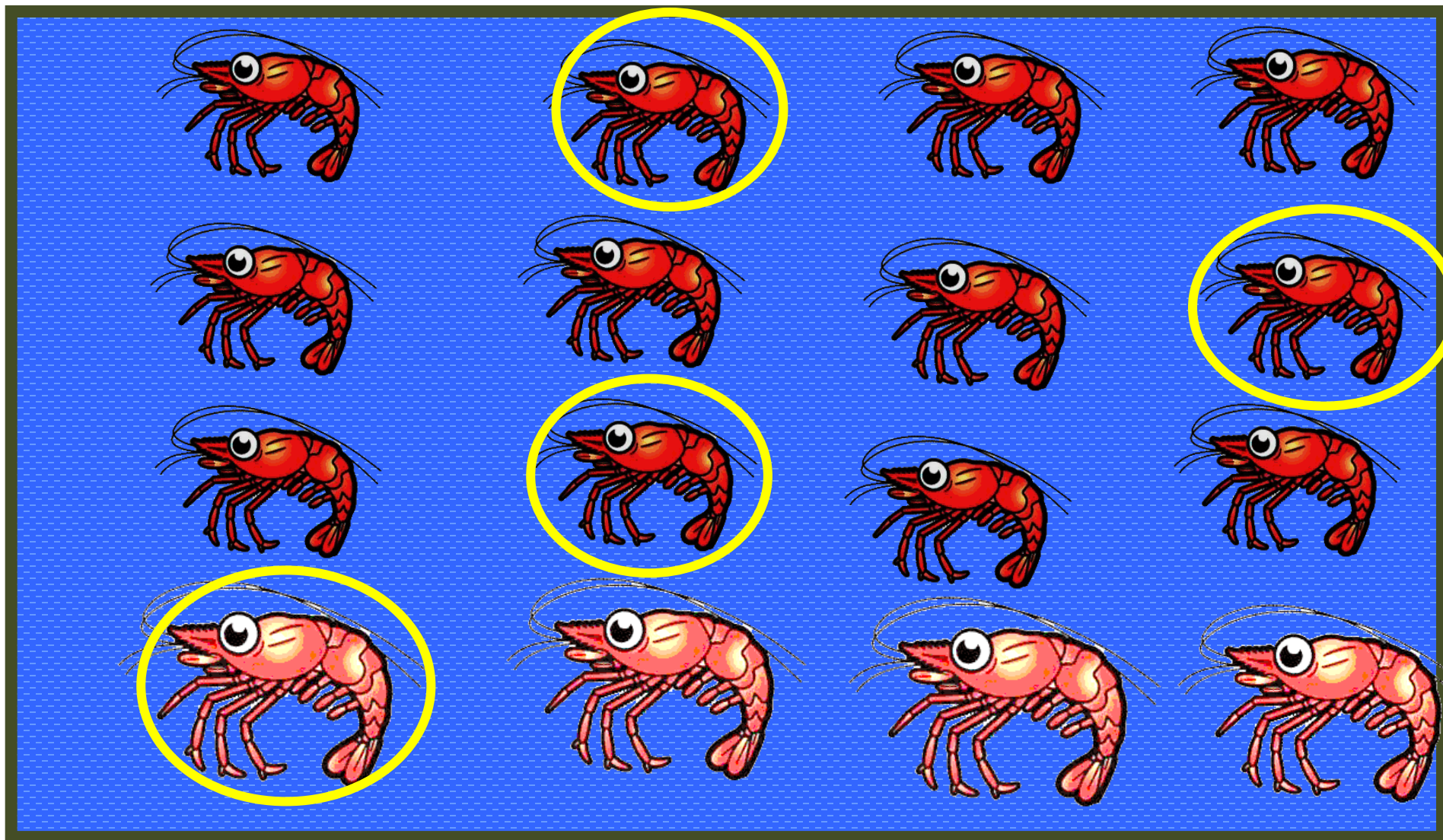
Instituto Colombiano Agropecuario

Muestreo sistemático



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Muestreo estratificado



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

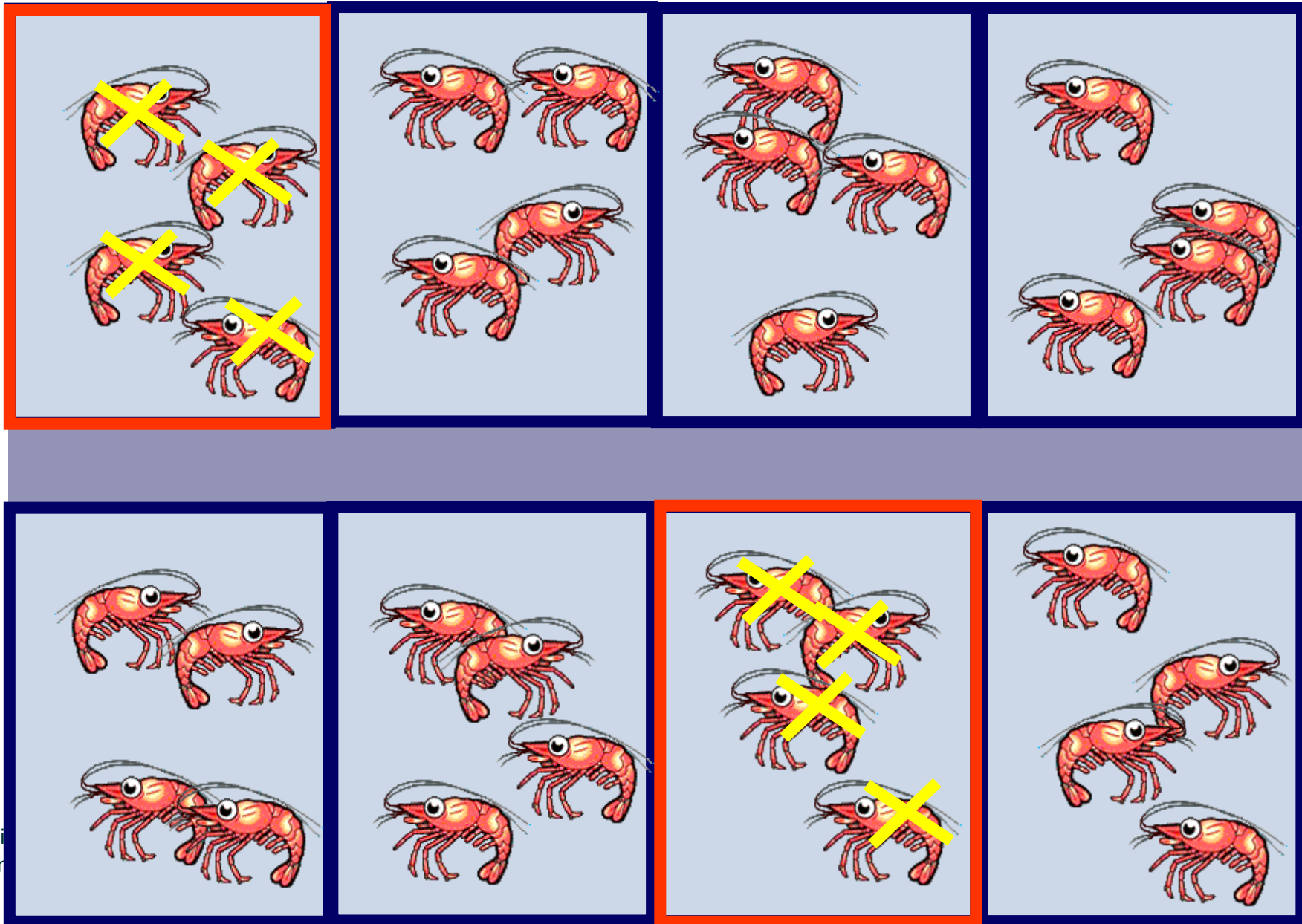


Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



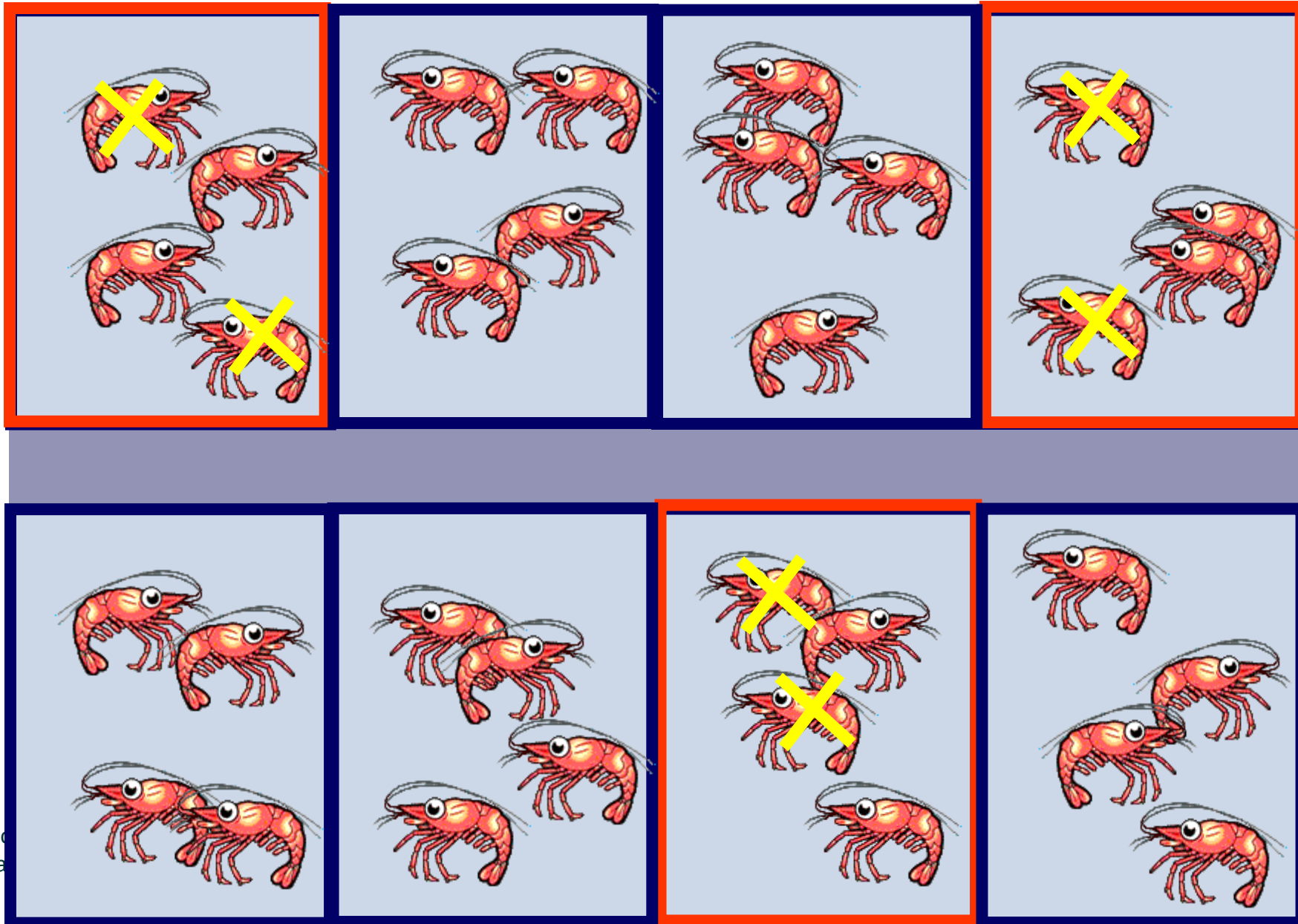
Instituto Colombiano Agropecuario

Muestreo de conglomerados (clusters)



Adaptaci
entrenar

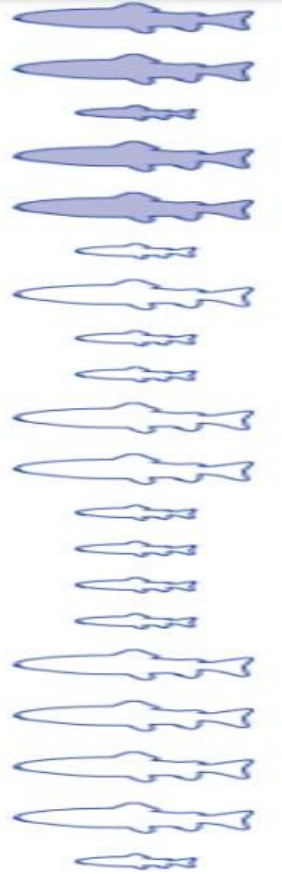
Muestreo multietápico



Adaptación
entrenamiento

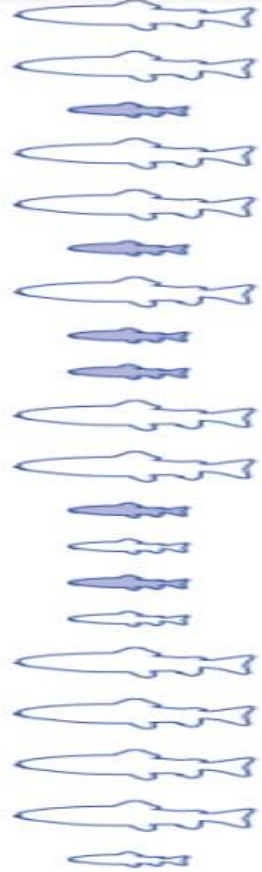
Ejemplos de muestreo NO probabilístico

Conveniencia



Primeros 5 peces seleccionados

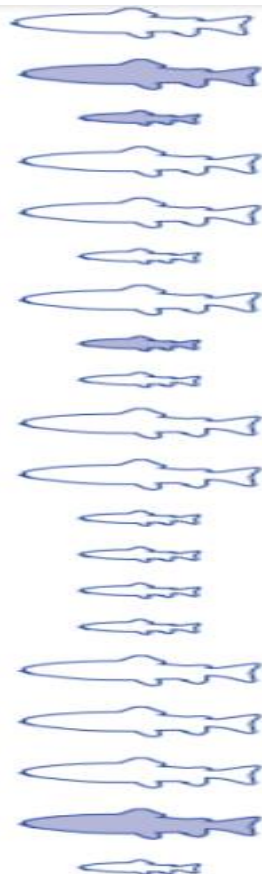
Deliberado



Peces pequeños seleccionados por caso

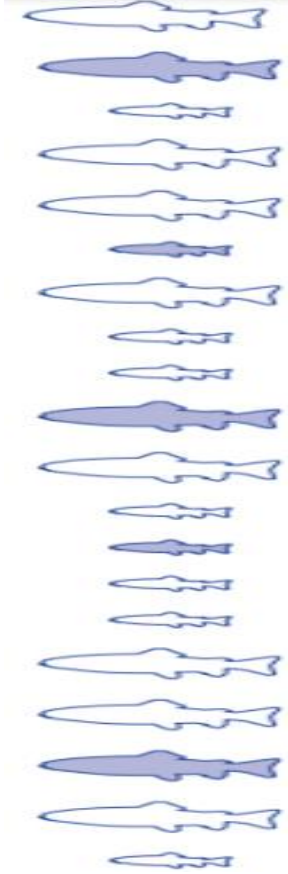
Ejemplos de muestreo probabilístico

Aleatorio



Nº aleatorio usado para seleccionar los peces

Sistemático



2º pez seleccionado con nº aleatorio, entonces cada 4 peces se selecciona

Características de la muestra

Homogeneidad

Representatividad

Aleatoriedad

Factores determinantes del tamaño de muestra

- estadísticos



- económicos



- logísticos



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Cálculo del tamaño de la muestra

- Nº de unidades para ser muestreada de una población podría ser calculado usando una técnica válida estadísticamente, considerando los siguientes factores:
 - **Prevalencia del diseño**
 - Nivel de confianza
 - Imperfección de test diagnóstico (sensibilidad y especificidad)
- Otros factores:
 - Tamaño de la población (aceptable para asumir una población infinitamente grande)
 - Poder deseado de la encuesta
 - Antes: tablas estandarizadas
 - Ahora: cálculo personalizado basado en factores anteriores

Prevalencia del diseño

- La prevalencia del diseño **NO ES** la prevalencia de la enfermedad
- Esta forma parte de la definición de la hipótesis nula
- Este es un concepto abstracto de lo que puede estar presente en la naturaleza
- La **prevalencia del diseño**:
 - Prevalencia esperada mínima
 - Prevalencia aceptada mínima
 - Prevalencia aceptable mínima

Prevalencia del diseño (PD)

- El manual OIE especifica PD para ciertas enfermedades terrestres, pero no para acuáticas
- A nivel de animal individual, el PD podría estar basado en la biología de la enfermedad
- Un valor PD adecuado a nivel del animal debe ser:
 - 1-5% para infecciones transmitidas lentamente
 - Sobre 5% para infecciones más contagiosas
- A niveles más altos (jaulón, estanque, granja, distrito, etc.) el PD usualmente refleja la prevalencia de la infección que es prácticamente y razonablemente capaz de ser detectada por el sistema de vigilancia
- Un valor de prevalencia PD adecuado para el primer nivel de agrupamiento (p.e. proporción de granjas infectadas en una zona) puede estar por encima del 2%

Prevalencia del diseño (PD)

- Por ejemplo, si un PD de 50% es usado cuando la prevalencia de TiLV es evaluada en granjas de peces en el país X, el resultado negativo significará que nosotros tenemos el 95% de confianza de que la prevalencia de infección es menos del 50% !!!!
- Si el valor es 1%, el resultado negativo significa que es aún posible que la infección exista, pero la prevalencia no es más del 1%
- El estatus libre de enfermedad es una prevalencia 0% (ningún animal infectado en el país o en la zona)

Detección de enfermedad

$$n = \left(1 - \alpha^{\frac{1}{d}} \right) \cdot \left(N - \frac{d-1}{2} \right)$$

$$d = PD \cdot N$$

**Método de muestreo
no probabilístico**

Ejemplo 1

Un veterinario desea conocer si en su explotación está presente TSV, ya que el país de destino exige que no estén infectados los animales que vayan a importar. La explotación tiene 1500 reproductores y se desea determinar, con un 95% de nivel de confianza, si existe o no infección en la explotación.

El veterinario ha revisado la bibliografía para conocer la prevalencia esperada de TSV con la que debe trabajar, y ha visto que la prevalencia media de una explotación infectada es del 5-10%.

Calcule el tamaño de la muestra necesario.

Solución: 58 muestras

Real Decreto 427/2003 (España)

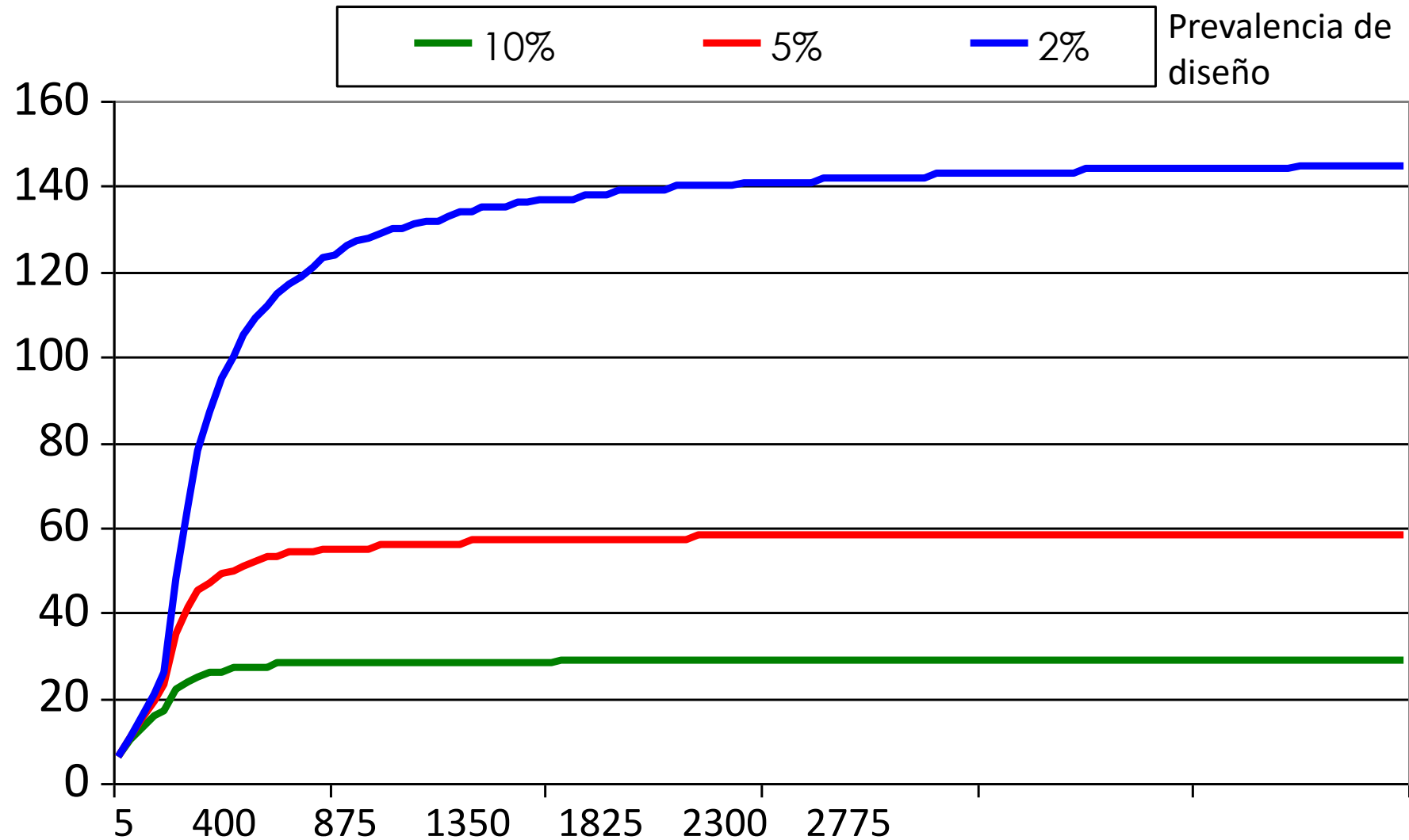
ANEXO IV

Tablas para la determinación de la presencia de la enfermedad en una explotación

Censo total	Censo a controlar
1-25	Todos
26-30	26
31-40	31
41-50	35
51-70	40
71-100	45
101-200	51
201-1.200	57
> 1.200	59

Cálculo del tamaño de muestra necesario para detectar la prevalencia del 5% con una fiabilidad del 95%.

Detección de enfermedad



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Prevalencia máxima posible

$$D = \left(1 - \alpha^{\frac{1}{n}} \right) \cdot \left(N - \frac{n-1}{2} \right)$$

Todas las muestras negativas

$$n = \left(\frac{D}{1 - P_{\max}^{\frac{1}{d}}} \right) \cdot \left(\frac{D-1}{N-2} \right)$$

Estimar una prevalencia

$$n = Z_{\alpha/2}^2 \cdot \left(\frac{\sigma}{E} \right)^2$$

$$\sigma = \sqrt{p \cdot (1 - p)}$$

$$n = Z_{\alpha/2}^2 \cdot \frac{p \cdot (1 - p)}{E^2}$$

n: tamaño de muestra necesario

Z: depende de nivel de confianza (NC=95% → Z=1,96)

P: proporción esperada

E: Error absoluto aceptado o precisión

Ejemplo 2

Un centro de multiplicación de camarón, con un censo de 300 reproductores, ha observado la importancia creciente de la IHHN.

Los responsables de la explotación sospechan que actualmente existe una prevalencia del 40% y ante esta situación desean poner en marcha un programa de control que requiere conocer el valor real de la prevalencia de enfermedad en esa población con un error máximo aceptado del 5% y un nivel del confianza del 95%.

Calcule el tamaño de la muestra.

Solución: 369 muestras

Ajustes del tamaño de la muestra

- Redondeo al alza
- Incremento porcentual
- Ajustes del tamaño de muestra si:
 - $n/N > 0,10 \Rightarrow n > 0,1 \times N$
 - estimar medias o proporciones

$$n_a = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}} = \frac{n \cdot N}{N + n}$$

Ejemplo 3

Un centro de multiplicación de camarón, con un censo de 300 reproductores, ha observado la importancia creciente de IHHN.

Los responsables de la explotación sospechan que actualmente existe una prevalencia del 40% y ante esta situación desean poner en marcha un programa de control que requiere conocer el valor real de la prevalencia de enfermedad en esa población con un error máximo aceptado del 5% y un nivel de confianza del 95%.

Calcule el tamaño de la muestra.

Solución ajustada: 166 muestras

Ejemplo 4

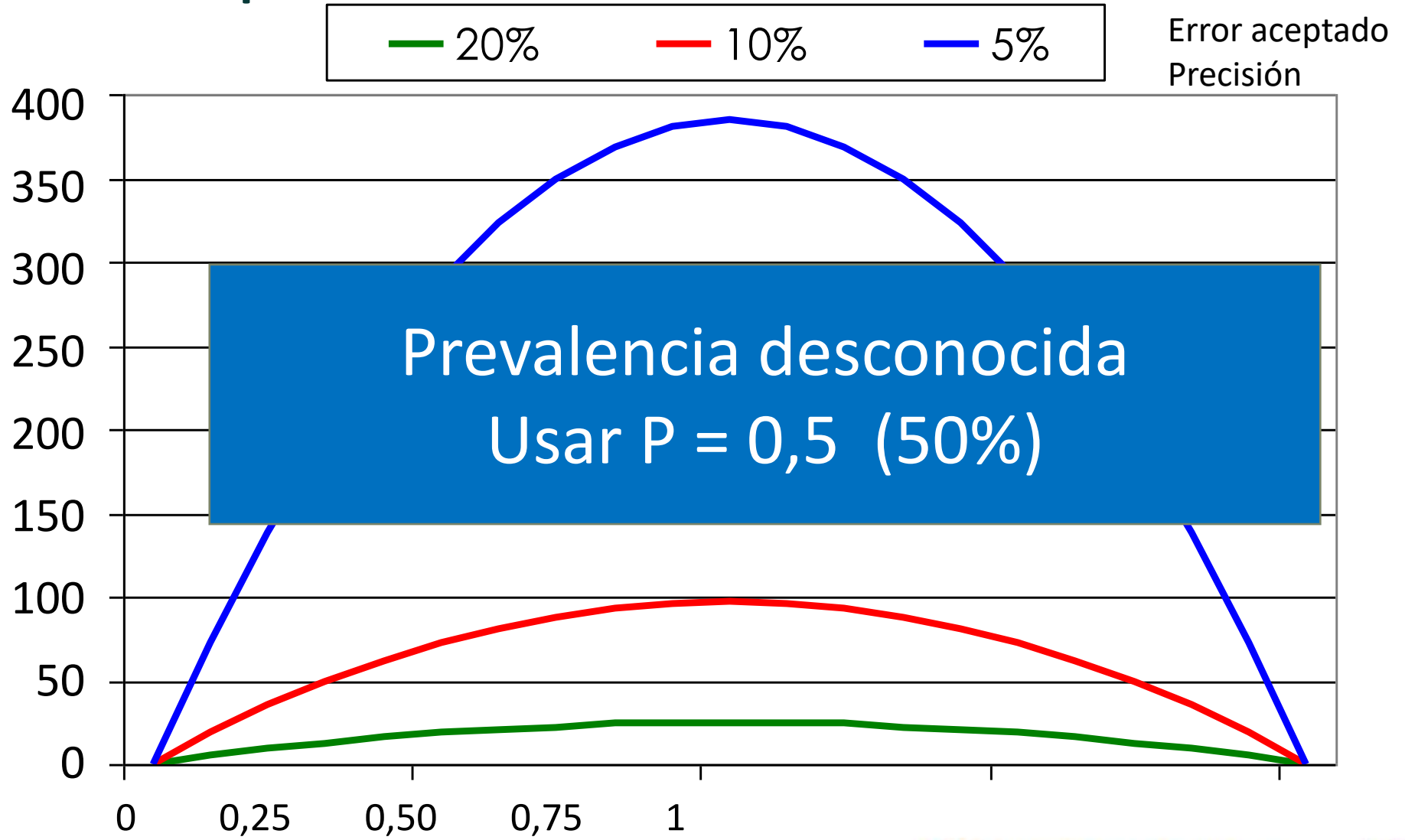
Un centro de multiplicación de camarón, con un censo de 3000 reproductores, ha observado la importancia creciente de IHHN.

Los responsables de la explotación sospechan que actualmente existe una prevalencia entre 10 y 20% y ante esta situación desean poner en marcha un programa de control que requiere conocer el valor real de la prevalencia de enfermedad en esa población con un error máximo aceptado del 5% y un nivel de confianza del 95%.

Calcule el tamaño de la muestra.

Solución ajustada: 228 muestras

Estimar una prevalencia



Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Epidemiological calculators



The screenshot shows the homepage of EpiTools, a website for epidemiological calculators. The header includes the EpiTools logo and navigation links: Casa, Predominio, Estudios, Diagnósticos, and Muestreo. The main heading is "Epitools - Calculadoras Epidemiológicas". Below this, a paragraph states that the site is developed and maintained by Ausvet and is intended for epidemiologists and researchers. The page is organized into three columns of utility links:

- Utilidades de vigilancia**
 - Encuestas de libertad representativa de 1 etapa
 - Encuestas de libertad representativas en 2 etapas
 - Estimando la verdadera prevalencia
 - Módulo HerdPlus para la sensibilidad y la libertad del rebaño en poblaciones finitas
 - Calculadora de prevalencia agrupada
 - Muestreo aleatorio de una población
- Estudios epidemiológicos**
 - Análisis de bioequivalencia
 - Distribuciones de probabilidad
 - Cálculos de tamaño de muestra
 - Prueba de significación estadística
 - Resumir datos categóricos o continuos
- Pruebas de diagnóstico**
 - Aplicación de pruebas de diagnóstico
- Datos del estudio de caso**
 - Datos de estudio de caso de GIS de Epidemiología para veterinarios de campo, texto
 - Estudio de casos de resolución de problemas epidemiológicos y respuestas modelo

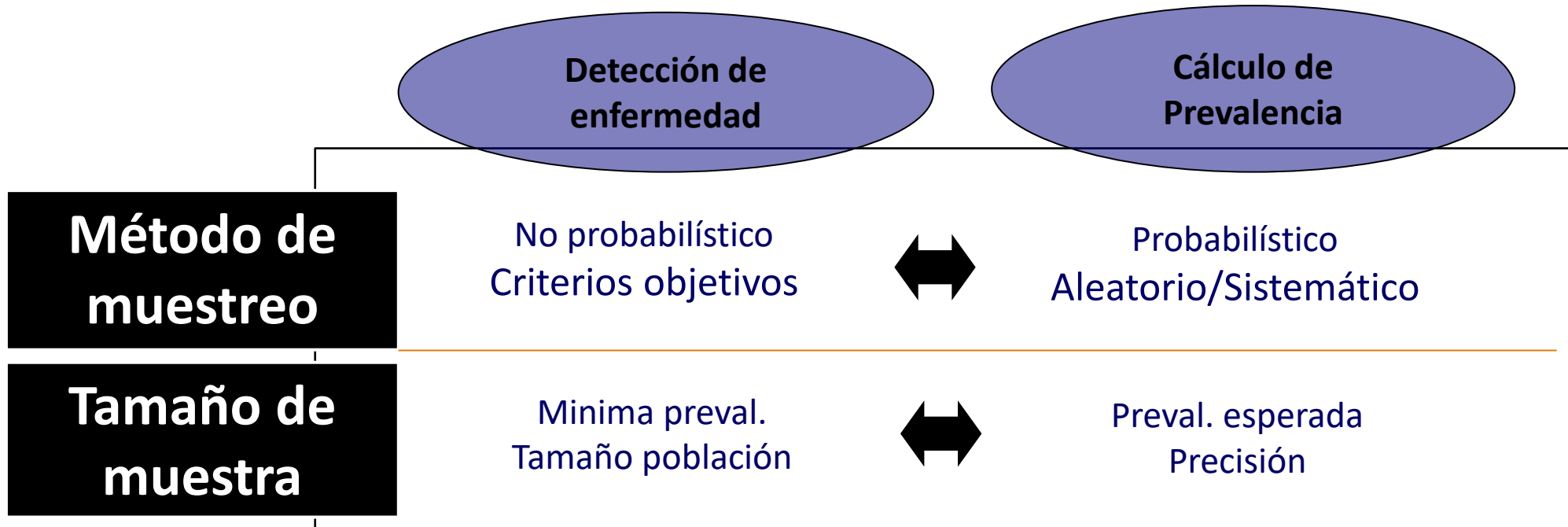
<https://epitools.ausvet.com.au/>



The screenshot shows the WinEpi website interface, titled "Working in Epidemiology". The header includes the WinEpi logo and navigation links: Sobre WinEpi, Colaboradores, Contáctenos, and Español. The main heading is "1 Tamaño de muestra: Detectar enfermedad (muestreo aleatorio y diagnóstico perfecto)". Below this, there is a section titled "Variables disponibles" with a text box explaining that to determine the minimum sample size, users must indicate the variables they have information on. There are input fields for "Nivel de confianza", "Tamaño de la población", and "Nivel de detección", along with a "Seguir" button. At the bottom, there are links for "Ayuda básica", "Ayuda avanzada", "Ejemplo", "Referencias", "Coautores", and "Funciones relacionadas".

<http://winepi.net/winepi2/>

Diferencias metodológicas



Estudio de caso: sistema de acuicultura cerrado

Tipo de muestreo	Frecuencia	Clase	Tipo de test	Patógeno	Muestra
Moribundo de rutina	Trimestral, en curso	Moribundo o muerto fresco	Cultivo celular	Múltiples para enfermedades exóticas o emergentes	70/año
Patógeno específico	Semestral, temporal	Selección aleatoria	RT-PCR	SAV, ISA	165/año
Observa-cional	Rutinario (diario, semanal, en curso)	Moribundo o muerto fresco	Investigación veterinaria si está por encima del umbral	Patógeno clínico en estas especies	5 muestras por evento

Adaptación de la traducción al español de la presentación original de Nihad Fejzic en el curso de entrenamiento EUS/TiLV Surveillance and diagnostics, Zambia, 2019

Diseño: muestreo de una etapa

- Marco de muestra disponible
- Se recolecta una muestra aleatoria (muestreo aleatorio simple)

Diseño: muestreo de dos etapas

- Diseño 1: Probabilidad proporcional al tamaño
- Diseño 2: Muestreo aleatorio simple
- Diseño 3: Muestreo aleatorio geográfico coordinado

Ejemplo de TiLV (si la probabilidad de muestreo no es alcanzable)

- Unidad epidemiológica: una granja de tilapia
- Unidad de muestreo: Una mezcla de 30 tilapias enfermas o moribundas de estanques de la granja
- Número total de granjas inscritas y participantes: 40 a 60 granjas de tilapias, que podrían ser visitadas dos veces (Total de visitas de campo = 80 a 120, por país y muestrear en cada granja a una prevalencia del 2%)
- Dinámica del muestreo: 1º y 2º semestres

Muchas gracias

Preguntas

Ignacio de Blas

MV, PhD Epidemiología
Universidad de Zaragoza, España

deblas@unizar.es

