1 RESUMEN

El salto intercontinental del subtipo H5N1 de la gripe aviar de alta patogenicidad (GAAP H5N1) a finales de 2005 desde el sudeste asiático a Europa y África, supuso una expansión mundial sin precedentes de una enfermedad que causaba mortalidades masivas de aves, muchas de ellas especies silvestres. Las aves acuáticas silvestres, reservorios naturales de los virus gripales tipo A, fueron en Europa víctimas de la epidemia cuya principal oleada coincidió con la migración otoñal desde el Nordeste al Suroeste europeo. La dispersión de la GAAP H5N1 entre las aves acuáticas europeas y la detección continua y progresiva de brotes dispararon las alarmas que derivó en un gran esfuerzo en tiempo, muestras y dinero para emprender en Europa planes de vigilancia frente a esta enfermedad.

La situación estratégica de España en las rutas migratorias de estas aves se traduce en una gran importancia de poblaciones invernantes de aves acuáticas en nuestro país. Este hecho y la representatividad que posee el sector avícola, muy potente en determinadas áreas, planteaba una gran preocupación por el avance de esta enfermedad.

Previamente EFSA había publicado una evaluación cualitativa del riesgo de entrada de GA por aves migratorias en Europa que tomamos como punto de partida de nuestras investigaciones. Sobre la base de este documento construimos un análisis semicuantitativo para España basado en datos sobre nuestro país, nuestras aves y explotaciones, seleccionando información relativa a la época migratoria, al comportamiento y a los movimientos de las especies de aves acuáticas. El resultado a nivel provincial permitió obtener un primer nivel del riesgo de introducción y conocer su consecuencia en el sector.

Una vez pulida y procesada la información por el método semicuantitativo se planteó el uso de una metodología más compleja pero también más precisa, para evaluar el riesgo de entrada por aves acuáticas migratorias mediante un análisis espacial cuantitativo. El estudio minucioso de la base de datos de la Oficina de Especies Migratorias (MARM) para las especies seleccionadas y el uso de la epidemiología espacial permitió estimar un riesgo relativo de entrada para cada unidad veterinaria de España. Esto posibilitó la evaluación y la mejora del diseño del sistema de vigilancia.

Entre los resultados más interesantes destaca, en primer lugar, la identificación del suroeste peninsular como la zona con mayor riesgo relativo de entrada de GA por aves acuáticas invernantes con ambos métodos. Junto con el nordeste (provincias catalanas), constituyen las áreas donde la consecuencia de dicha entrada sería mayor, según el

método semicuantitativo, pudiendo ser debido tanto a su importancia en la acogida de aves invernantes como a algunos sistemas productivos de aves de exterior. Con el método cuantitativo, también aparece un área de mayor riesgo relativo en el norte, comprendiendo la provincia de Álava, La Rioja, Soria y algunas unidades veterinarias de Zaragoza y Huesca fundamentalmente.

Otro de los resultados destaca un elevado índice de riesgo para especies acuáticas silvestres como los *Larus ridibundus, Anser anser* o *Anas crecca* en las que deberían priorizarse los esfuerzos de vigilancia, fundamentalmente en las zonas cuya abundancia en la invernada sea mayor. Aunque el conocimiento de la enfermedad es aún limitado para estas especies, sí se ha constatado el posible riesgo de *Anas crecca* como dispersora de vGA por lo que aumenta la importancia de esta especie para la vigilancia.

También se obtuvieron resultados de la evaluación de los esfuerzos que se realizaron en Europa en la vigilancia de las aves silvestres durante los años 2005-2007. Tanto en España como en Holanda, el número de aves muestreadas, fueron aparentemente muy superiores a su probabilidad de ocurrencia de GAAP H5N1 cuando se comparaba con los demás países de la Unión Europea. Sin embargo, los resultados a nivel de las unidades veterinarias señalaron que este aparente exceso se concentró en unas zonas descuidando por completo otras.

Dos brotes ocurridos en España, el somormujo lavanco (*Podiceps cristatus)* que fue positivo a GAAP H5N1 en 2006 en Salburúa (Vitoria) y el reciente brote de GAAP H7N7 en gallinas ponedoras en Almoguera (Guadalajara) en octubre de 2009, nos permitieron validar nuestros resultados. El primero estaba situado en una provincia con mayor riesgo relativo. El segundo, coincidía con una unidad veterinaria de riesgo relativo elevado.

Los resultados obtenidos en esta Tesis demuestran que un muestreo basado únicamente en la abundancia de aves acuáticas silvestres no sirve para detectar precozmente la circulación de un determinado subtipo. Por el contrario un buen sistema de detección precoz debería estar basado en el empleo de metodologías como el análisis de riesgo y el análisis espacial, que consideran tanto la incidencia de la enfermedad como la información biológica de los vectores que, en este caso son las aves silvestres.

SUMMARY

The intercontinental spread of H5N1 highly pathogenic avian influenza (H5N1 HPAI) at the end of 2005 from Southeast Asia to Europe and Africa, reached an unprecedented spread causing for massive mortalities in birds, many of them wild species. Aquatic wild birds, natural reservoirs of influenza virus type A, were victims in Europe of an epidemic the first wave of which coincided with the autumn migration from Northeastern to Southwestern Europe. The spread of H5N1 HPAI among wild aquatic birds in Europe and the progressive and continuous detection of outbreaks increased the alarms leading to huge efforts in time, sampling and costs in avian influenza surveillance.

Spain's strategic situation in relation to the migratory flyways of these birds translates in an important population of wintering waterbirds. This fact, added to the representativeness of the avian production industry in Spain, increased the concern about the continuous spread of the disease and its possibility to reach our country.

Previously, EFSA had published a qualitative assessment of the risk of introduction of AI by migratory birds in Europe, which we took as a starting point in our investigations. Within this framework, a semiquantitative model was developed for Spain based on data from our own country, on our birds and farms, selecting the information relative to migration season, behaviour and bird movement of aquatic bird species. The result, expressed by provinces, allows obtaining a first level identification of the risk of introduction and its consequences by type of avian production.

Once the information was processed and analyzed, a more complex but also more precise methodology was raised to assess the risk of introduction by migratory water birds through a spatial quantitative analysis. The detailed analysis of the Migratory Species Office's (MARM) database of wild birds' movements and the use of spatial epidemiology techniques allowed estimating a relative risk of introduction for each of the Spanish veterinary units. This allowed evaluating and improving the design of the surveillance scheme.

Among the most noteworthy results, both methods identified the Southwest corner of Spain as the area with the highest relative risk of introduction of wild wintering waterbirds. Together with the Northeastern region, they represent the areas in which the local impact of the introduction of H5N1 HPAI, estimated with the semiquantitative method, would be higher, that could be because of their importance as wintering sites but also because of the spatial distribution of certain outdoor avian production systems. With the quantitative spatial model, there is also a northern higher risk area

corresponding to the provinces of Alava, La Rioja, Soria and to some of the veterinary units of Zaragoza and Huesca mainly.

Another interesting result is the high risk index identified for aquatic wild birds such as *Larus ridibundus, Anser anser* or *Anas crecca* which can help to target surveillance sampling towards those areas in which these species are abundant during the wintering period. However, the scientific knowledge about the disease in wild birds is still limited, and of the 3 species mentioned, for the moment, only *Anas crecca* has been pointed as a possible spreader of AI virus, increasing the importance of this species for surveillance.

Results were also obtained for the assessment of the wild bird surveillance efforts in the European Union (EU) during 2005-2007. In both Spain and The Netherlands, the number of wild birds sampled was apparently much higher than its probability of H5N1 HPAI occurrence compared with other EU countries. However, results at the veterinary unit level revealed that this apparent oversampling was concentrated in specific areas, while others were completely neglected.

The two AI outbreaks occurred in Spain, one in a H5N1 HPAI positive crested grebe (*Podiceps cristatus)* in 2006 in Salburua (Vitoria), and another more recent one in a layer hen farm positive to H7N7 HPAI in Almoguera (Guadalajara) in October 2009, have allowed the validation of our results. The former was located in one of the areas at higher relative risk of introduction, while the latter was in a high relative risk area.

The results obtained in this Thesis demonstrate that a sampling scheme based only on the abundance of aquatic wild birds is not enough to early detect the circulation of a specific subtype. On the contrary, an efficient early detection system should be based on epidemiological tools such as risk assessment or spatial analysis techniques that consider both the disease incidence as well as the biological information of vectors, wild birds in this case, which is in summary what is being demonstrated in this Thesis.