



PROTOCOLO DE ACTUACIÓN PARA LA CONFIRMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY ANTE LA PRESENCIA DE ANIMALES POSITIVOS AISLADOS O FALSOS POSITIVOS

1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La aplicación sistemática desde el año 2003 de las medidas contempladas en el Programa Nacional coordinado de lucha, control y erradicación de la enfermedad de Aujeszky en España ha permitido llegar a la situación actual definida por la ausencia de enfermedad (prevalencia cero) en la inmensa mayoría del territorio español, quedando tan sólo unas pocas comarcas con prevalencias muy bajas, todas ellas por debajo del 3%, consideradas como de baja prevalencia según el RD 360/2009, de 23 de marzo, por el que se establecen las bases del programa actualmente en vigor.

Igualmente el proceso de calificación de explotaciones frente a la enfermedad de Aujeszky está muy avanzado, aunque queda todavía un pequeño número de explotaciones pendientes de completarlo.

La utilización de vacuna marcada gE negativa ha sido una de las herramientas fundamentales sobre las que se ha asentado el programa de erradicación de la enfermedad de Aujeszky. Actualmente la técnica de ELISA diferencial es la única técnica capaz de discriminar entre una respuesta de anticuerpos producida por vacunación o por infección natural.

Las técnicas de ELISA diferencial utilizadas para la detección de anticuerpos anti gE poseen una alta sensibilidad y especificidad, pero como cualquier técnica tienen un margen de error, de manera que cuando se trabaja con un alto número de sueros siempre hay un pequeño porcentaje de falsos negativos y de falsos positivos inherentes a las limitaciones de la propia técnica.

Por otro lado el valor predictivo de una prueba (entendido en el caso de valor predictivo positivo como la probabilidad de que un animal positivo sea realmente positivo) no sólo depende de los valores inherentes a la propia técnica (sensibilidad y especificidad) sino que también depende de la prevalencia real de la enfermedad en la población. Cuando la prevalencia disminuye también disminuye el valor predictivo de una prueba y de este modo, en una población 100% sana aumenta la probabilidad de encontrar falsos positivos. Esta situación debe tenerse muy presente a la hora de analizar los resultados serológicos procedentes de explotaciones con una prevalencia esperada de 0%, como es actualmente el caso de la mayoría de las explotaciones de porcino en España.



Estas consideraciones y limitaciones técnicas deben tenerse muy en cuenta tanto a la hora de resolver los procesos de calificación de explotaciones como a la hora de interpretar la presencia de un número reducido de animales con resultado positivo (single reactors) cuando se realiza un control serológico de seguimiento o para mantenimiento de calificación en una explotación previamente calificada.

Dada la importancia y trascendencia que implican las decisiones a tomar a partir de un resultado positivo tanto para la explotación implicada como para el conjunto del territorio donde se localiza, se hace necesario revisar el actual protocolo de actuación para la confirmación epidemiológica de la enfermedad de Aujeszky ante la presencia de positivos aislados, incorporando la experiencia adquirida a través de la casuística acumulada a lo largo de estos últimos años y buscando dar una respuesta rápida y garantista a las situaciones que se puedan plantear.

2. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE LA APARICIÓN DE POSITIVOS AISLADOS (gE positivos) EN EL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE EXPLOTACIÓN INDEMNE DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY

El RD 360/2009 establece en el punto 3 de capítulo I del Anexo II referido a la obtención del título de la enfermedad de Aujeszky que *“cuando se detecte en el primer control la presencia de un número de animales no superior a un 1% serológicamente positivos a la gE del virus de la enfermedad de Aujeszky, se procederá a la confirmación epidemiológica, virológica o molecular de la enfermedad”*.

El proceso de calificación frente a la enfermedad de Aujeszky implica en el caso de explotaciones con reproductores, un control inicial del 100% de los mismos.

Hay que tener en cuenta que cuando se inicia un proceso de calificación partimos de una población en la que no conocemos la prevalencia real de la enfermedad, aunque suponemos que será cero o muy próxima a este valor. Por lo tanto en este caso la presencia de animales positivos aislados (single reactors) puede obedecer tanto a la aparición de **falsos positivos** en el proceso de análisis serológico como a la presencia de **animales positivos residuales**, que permanecían en la explotación en un porcentaje muy bajo de tal manera que no habían sido detectados en los controles de seguimiento anteriores.

En este último caso, hay que tener en cuenta que la importancia epidemiológica, en términos de riesgo, de los animales positivos residuales es poco significativa cuando en la explotación se mantienen medidas estrictas de vacunación. El mantenimiento de un buen programa de vacunación permite alcanzar un estado de inmunocompetencia que reduce al mínimo las posibilidades de reversión de la infección desde estados de latencia, de tal manera que los animales no eliminan virus al exterior, aunque en su día se hubieran infectado y sean por tanto serológicamente positivos durante toda su vida. Por tanto un animal positivo no significa que necesariamente esté en fase de excreción vírica.



PROTOCOLO DE CONFIRMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA:

Si la explotación viene cumpliendo de forma satisfactoria las medidas recogidas en el RD 360/2009, y de manera especial el programa de vacunación y reposición, cuando se detecte la presencia en el primer control serológico de un número de animales no superior al 1% serológicamente positivos a la gE del virus de la enfermedad de Aujeszky, los animales positivos se considerarán como positivos aislados, debiendo ser eliminados lo antes posible de la explotación, y siempre en el plazo máximo de dos meses desde la fecha de comunicación de los resultados.

Una vez eliminados los animales seropositivos, se realizará un nuevo control en un plazo mínimo de 30 días y máximo de 90 días desde la primera toma de muestras, con el fin de descartar una posible difusión de la infección. Para ello se realizará un muestreo aleatorio sobre el efectivo reproductor que permita determinar la presencia de la enfermedad supuesta una prevalencia mínima del 5%, con grado de confianza del 95%.

Si en este segundo control el resultado es negativo, la granja se calificará cuando realice un nuevo control con resultado negativo, con un tamaño de muestra que permita determinar la presencia de la enfermedad supuesta una prevalencia mínima del 5%, con grado de confianza del 95% separado al menos cuatro meses del control inicial; tal y como se establece en el capítulo I del anexo II para la obtención del título de explotación indemne de la enfermedad de Aujeszky.

Si el resultado del segundo control detectase hasta tres sueros positivos, se actuará según lo establecido en el punto 3 de este protocolo para el mantenimiento del título.

Si se detectan más de tres sueros positivos se denegará la calificación como explotación indemne.

3. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE LA APARICIÓN DE POSITIVOS AISLADOS (gE positivos) EN LOS CONTROLES SEROLÓGICOS REALIZADOS PARA EL MANTENIMIENTO DEL TÍTULO DE EXPLOTACIÓN INDEMNE U OFICIALMENTE INDEMNE DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY O EN CUALQUIER OTRO CONTROL DE SEGUIMIENTO EN EXPLOTACIONES PREVIAMENTE CALIFICADAS

El Real Decreto 360/2009 establece en el capítulo III de los anexos II y III que:
“Cuando se detecte la presencia de animales clínicamente enfermos o serológicamente positivos a la gE del virus de la enfermedad de Aujeszky, se procederá a la confirmación epidemiológica, virológica o molecular de la enfermedad”



En este caso y teniendo en cuenta que partimos de explotaciones previamente calificadas y por lo tanto de poblaciones negativas, el problema al que nos enfrentamos es diferenciar si los positivos aislados corresponden a **falsos positivos o si bien nos encontramos ante la presencia de animales infectados (seroconversión)**, y por lo tanto se requiere una respuesta urgente para descartar o confirmar la reinfección de la explotación.

Por otro lado, debe tenerse en cuenta, que los controles de seguimiento y de mantenimiento se realizan sobre una muestra significativa de población pero a su vez limitada (máximo 59 muestras) y por lo tanto la presencia de positivos aislados debe considerarse en términos numéricos y no proporcionalmente.

PROTOCOLO CONFIRMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Cuando en un control seguimiento o de mantenimiento del título de granja indemne se detecte la presencia de hasta tres sueros positivos aislados, siendo el resto negativos, el laboratorio autorizado procederá a realizar de forma inmediata una nueva lectura de los sueros positivos con otro kit ELISA diferente al utilizado para el primer análisis.

Si el resultado del control contradictorio efectuado con el otro kit ELISA es negativo la explotación se considerará negativa, manteniendo el título correspondiente.

Si el resultado del control contradictorio efectuado sobre la muestra, da también resultado positivo en alguno de los sueros, inmediatamente se procederá a realizar una nueva toma de muestras, con un tamaño de muestra capaz de detectar la presencia de la enfermedad supuesta una prevalencia mínima del 5%, con un grado de confianza del 95%, incluyendo los cerdos en contacto con los positivos e intentando que no se repitan los animales muestreados en el primer control. Se realizará también un examen clínico del conjunto de los animales presentes en la explotación. En cualquier caso los animales con resultado serológico positivo deberán eliminarse lo antes posible de la explotación.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en este segundo control se procederá de la siguiente manera:

- Si todos los resultados son negativos se procederá a levantar la sospecha de infección en la explotación y ésta mantendrá su título.
- Si sólo un animal da resultado positivo, se procederá a levantar la sospecha y la explotación mantendrá su título, después del sacrificio del animal positivo.
- Si dos o tres animales tienen resultado positivo la explotación se mantendrá como sospechosa, con el título suspendido, debiéndose proceder a la eliminación de los animales positivos y a realizar una nueva toma de muestras, entre los 15 y 21 días siguientes al muestreo inicial con un tamaño de muestra capaz de detectar la presencia de la enfermedad supuesta una prevalencia



mínima del 2% con un grado de confianza del 95%. En el caso de que se trate de una explotación con reproductoras en la que existan también animales de cebo, se procederá a tomar 30- muestras de los mismos, distribuidas entre los diferentes alojamientos.

Si el resultado de este nuevo control es negativo se procederá a levantar la sospecha de infección en la explotación y ésta mantendrá su título.

Si existe algún resultado positivo se procederá a considerar la explotación como infectada, suspendiendo en su caso el título y procediendo según lo dispuesto en el capítulo III de los anexos II y III referentes a la suspensión y recuperación de la calificación de explotaciones indemnes u oficialmente indemnes.