

PROCEDIMIENTO DE ACTUACIÓN ANTE LA DETECCIÓN DE ANIMALES POSITIVOS A PRRS EN LAS ANALÍTICAS SEROLÓGICAS EN LOS CENTROS DE RECOGIDA DE MATERIAL GENÉTICO E INSTALACIONES DE CUARENTENA.

(Aprobado por la Comisión Nacional de Zootecnia el 18 de octubre de 2022)

1. MARCO LEGAL Y ANTECEDENTES.

El Reglamento Delegado (UE) 2020/686 por el que se complementa el Reglamento (UE) 2016/429 en lo referente a la autorización de los establecimientos de productos reproductivos y a los requisitos zoonosanitarios y de trazabilidad aplicables a los desplazamientos dentro de la Unión de productos reproductivos de determinados animales terrestres en cautividad, establece el nuevo marco normativo que deben cumplir todos aquellos operadores que trabajen con productos reproductivos en la Unión.

Una de las grandes novedades en dicho reglamento ha sido el establecimiento de requisitos en relación al Síndrome disgenésico y respiratorio porcino (PRRS). Dentro de las mismas se encuentran las siguientes analíticas (Ver Anexo II, Parte 2, Capítulo I, Reglamento (UE) 2020/686):

1. Antes de entrar al alojamiento de cuarentena: un test serológico, pudiendo emplearse la prueba de inmunoperoxidasa en monocapa, la prueba de inmunofluorescencia o ELISA.
2. Tras la admisión en el alojamiento de cuarentena y una vez transcurridos 21 días un test serológico (se encuentran autorizadas las mismas pruebas que en el punto 1) y una prueba para la detección del genoma del virus, pudiéndose emplear para esta determinación la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), RT-PCR anidada o RT-PCR en tiempo real.
3. La realización de pruebas rutinarias una vez los animales se encuentran en el centro de recogida de esperma (RS), para ello se llevarán a cabo test serológicos, estando autorizados los mismos recogidos en el punto 1.

La utilización de pruebas serológicas puede dar lugar a la aparición de falsos resultados positivos. Así, la EFSA indica que para los ELISAs (los test más empleados) y en función del fabricante del test la especificidad puede variar entre el 90% y el 100%. El problema de los falsos positivos en las pruebas serológicas fue puesto de manifiesto en la reunión del Grupo de Expertos sobre productos germinales de la Comisión en su reunión del 14 de octubre (la agenda anotada y el informe de la reunión pueden consultarse en https://ec.europa.eu/food/animals/animal-health/expert-group-animal-health_nl). En dicha reunión se acordó que es responsabilidad de las autoridades competentes (en el caso de España, las Comunidades Autónomas), elaborar un protocolo para hacer frente a un resultado positivo a PRRS en los alojamientos de cuarentena y centros de recogida de esperma. En el caso de los test serológicos la Comisión sugiere la repetición de la prueba y que se aplique la definición de caso recogida en el Artículo 9 del Reglamento Delegado (UE) 2020/689.

Durante dicha reunión diferentes Estados Miembros indicaron o que ya tenían dicho procedimiento para tratar los casos positivos en los test serológicos de PRRS o bien estaban trabajando en ellos.

Por parte del Servicio de Prevención de la Salud Animal de la Subdirección General de Ganadería de la Generalitat de Cataluña se comunicó al MAPA un procedimiento para hacer frente a la aparición de falsos positivos o positivos aislados en los análisis serológicos a PRRS en los alojamientos de cuarentena y centros de recogida de esperma. Dicho procedimiento ha sido empleado como base para la redacción de la actual propuesta.

IMPORTANTE: Este procedimiento no es de aplicación a la aparición de positivos en las pruebas de detección del genoma del virus. En ese caso se tendrá que considerar el caso como confirmado y recomendar sacrificar todos los animales del centro de recogida de esperma o alojamiento de cuarentena.

2. OBJETO.

El presente procedimiento tiene como objeto establecer un procedimiento común a seguir por las autoridades competentes de las Comunidades Autónomas para conformar o descartar como falso positivo o positivo aislado el caso de la detección de un positivo en las pruebas serológicas de PRRS realizadas en los alojamientos de cuarentena o centros de recogida de esperma de porcino.

3. PROCEDIMIENTO DE ACTUACIÓN CUANDO SE DETECTAN ANIMALES POSITIVOS A PRRS EN LAS ANALÍTICAS SEROLÓGICAS DE LOS CENTROS DE RECOGIDA DE ESPERMA PORCINO (RS).

Este procedimiento considera que la prueba serológica empleada es la ELISA.

Si tras esta analítica se obtuviese un primer resultado positivo, se han de desarrollar las siguientes actuaciones:

- **Repetir la extracción de sangre** lo antes posible desde la primera extracción de los animales serológicamente positivos y del resto de animales presentes en el RS. Las muestras serán analizadas en todos los casos con las técnicas ELISA + RT-PCR. El responsable de la extracción será el veterinario/a responsable del centro de recogida de semen y la extracción deberá realizarla con presencia de los Servicios Veterinarios Oficiales (SVO).
- **Inmovilización tras resultados positivos serológicos en la primera extracción:**
 - a) Tanto los animales serológicamente positivos como el resto de animales presentes en el RS, quedarán inmovilizados en las instalaciones hasta confirmar o descartar la enfermedad. Los SVO podrán autorizar la salida de animales solo con destino matadero.
 - b) Las dosis espermáticas de los animales serológicamente positivos y las del resto de animales presentes en el RS y producidas desde la fecha del último análisis con resultado negativo quedarán inmovilizadas. Si el método de conservación de las dosis lo permite, estas dosis podrán volver a ser objeto de intercambio comercial cuando se descarte la enfermedad en el centro. En caso de no descartar la enfermedad en el RS, se procederá a la destrucción del semen inmovilizado.

- **Investigación epidemiológica:** se realizará una investigación epidemiológica, conjuntamente con el/la veterinario/a responsable del centro para investigar el posible origen y vía de entrada de la enfermedad al RS. Los SVO tendrán que asegurarse de que se realizan correctamente todas las actuaciones anteriores.
- **Interpretación de los resultados de la segunda extracción (realizada de acuerdo al primer guion del apartado 3):**
 - a) Si sigue siendo el mismo único animal positivo en ELISA y la PCR de todos es negativa, se descarta la infección, el animal seropositivo deberá salir del centro y se recomendará su sacrificio.
 - b) En caso de que el resultado de la segunda extracción sea negativo (ELISA y RT-PCR) en todos los animales se descarta la enfermedad y se considera que el ELISA (+) de la primera extracción era un falso positivo.
 - c) En caso de que el resultado de la RT-PCR sea positivo, independientemente del resultado de ELISA, el centro no podrá emplear ninguno de los animales que haya estado en contacto con un positivo para la comercialización de semen, por lo que se recomienda que todos los animales del centro lo abandonen para su sacrificio. En el caso de los animales positivos ese abandono debe ser obligatorio, recomendándose, igualmente, el sacrificio de los mismos.
 - d) Siempre y cuando el resultado de la segunda extracción no indique que todos los animales deberían abandonar el centro:
 - o Si en el segundo control serológico aparecen nuevos animales serológicamente positivos (ELISA+) pero todos los animales se mantienen negativos en la PCR, se realizará un tercer control lo antes posible tras la segunda extracción, y se interpretarán los resultados según la siguiente tabla y lo indicado en apartados anteriores para la interpretación de los resultados del segundo análisis:

	Extracción 1	Extracción 2		Extracción 3		Sacrificio Recomendado
Motivo análisis	CIA	Protocolo PRRS		Protocolo PRRS		Serológicamente positivos
Técnica	ELISA	ELISA	PCR	ELISA	PCR	
Control periódico RS	(-)	NP(*)	NP	NP		NO
Control con resultados positivos	(+)	(-)	(-)	NP		NO
	(+)	(+) Inicial	(-)	NP		Sí (sólo el seropositivo)
	(+)	(+)	(+)	NP		Sí (todos)
	(+)	(-)	(+)	NP		Sí (todos)
	(-)	(+) Otros	(-)	(-)	(-)	NO

(*) NP: No procede

En caso de que el RS disponga de alojamiento de cuarentena con animales en el momento de obtención de resultados positivos y se confirma el caso del PRRS, se deberá volver a iniciar el período de cuarentena, independientemente de los resultados de controles anteriores, con la realización de los 2 controles serológicos pertinentes.

4 PROCEDIMIENTO DE ACTUACIÓN CUANDO SE DETECTAN ANIMALES POSITIVOS A PRRS EN LAS ANALÍTICAS SEROLÓGICAS DE LOS ALOJAMIENTOS DE CUARENTENA.

Este procedimiento se aplicará:

A las explotaciones clasificadas como *“explotaciones de cuarentena”* de acuerdo con el Real Decreto 306/2020, de 11 de febrero, siendo estas las: *“explotaciones en la que se mantienen los animales en observación y control sanitario antes de su traslado definitivo a la explotación ganadera de destino”*

A las instalaciones incluidas dentro de una explotación clasificada como *“centro de recogida de semen porcino”* de acuerdo con el Real Decreto 306/2020, donde se realizan los periodos de cuarentena preceptivos antes de ingresar los machos reproductores en las instalaciones de producción, ya sean del mismo centro u otros centros.

Tal y como indica el Reglamento (UE) 2020/686, las muestras recogidas en los alojamientos de cuarentena se analizarán con las técnicas de ELISA y RT-PCR, de forma que en función de los resultados:

1. Si el resultado obtenido con ambas técnicas ELISA y RT-PCR es negativo, el animal se considerará negativo y se descartará la enfermedad.
2. Si el resultado de la técnica RT-PCR es positivo, independiente del resultado de ELISA, ninguno de los animales presentes en la cuarentena accederá al centro y se recomendará el sacrificio de los mismos.
3. Si el resultado de la técnica ELISA es positivo y la RT-PCR negativa, se deberá
 - Aislar del resto de animales de la cuarentena a los animales positivos inmediatamente.
 - **Repetir la extracción de sangre lo antes posible** tras la primera extracción de sangre de los animales serológicamente positivos y del resto de animales presentes en la cuarentena. En el caso de que el alojamiento de cuarentena se encuentre dentro o aledaño de /a las instalaciones de un centro de recogida de semen, los SVO deberán evaluar las medidas de bioseguridad presentes para determinar si la cuarentena se puede considerar una unidad epidemiológica independiente, y en función de ello determinar si las analíticas se amplían a todos los verracos que residen en las instalaciones del centro de recogida de esperma. El responsable de la extracción será el veterinario/a responsable del centro de recogida de semen y la deberá realizar con presencia de los Servicios Veterinarios Oficiales (SVO).
 - **Inmovilización:**
 - a) Tanto los animales serológicamente positivos como el resto de animales presentes en la cuarentena, quedarán inmovilizados en las instalaciones hasta confirmar o descartar la enfermedad. En caso de que el alojamiento de

cuarentena se encuentre dentro/aledaño de/a las instalaciones de un RS, los SVO deberán evaluar las medidas de bioseguridad presentes para determinar si la cuarentena se puede considerar una unidad epidemiológica independiente, y en función de ello decidir si la inmovilización se amplía a todos los verracos que residen en las instalaciones del RS. En cualquier caso, los SVO podrán autorizar la salida de animales con destino matadero.

b) De igual modo, En caso de que el alojamiento de cuarentena se encuentre dentro/aledaño de/a las instalaciones de un RS, los SVO deberán evaluar las medidas de bioseguridad presentes para determinar si la cuarentena se puede considerar una unidad epidemiológica independiente, y en función de ello decidir si se aplica la inmovilización de las dosis de semen presentes en el RS.

- **Investigación epidemiológica:** conjuntamente con el/la veterinario/a responsable del centro para investigar el posible origen y vía de entrada de la enfermedad al centro. Los SVO tendrán que asegurarse de que se realizan correctamente todas las actuaciones anteriores.

- **Interpretación de los resultados de la segunda extracción:**

a) En caso de que el resultado de la segunda extracción sea negativo (ELISA y RT-PCR) se descarta la enfermedad y se considera que el ELISA (+) de la primera extracción era un falso positivo.

b) En caso de que algún animal de resultado positivo aislado en el ELISA y RT-PCR negativo en la primera extracción, y en la segunda extracción de sangre sigue siendo el único animal positivo en ELISA y la PCR de todos se mantiene negativa, se descarta la infección, pero animal seropositivo abandonará la cuarentena y se recomendará su sacrificio. .

c) En caso de que el resultado de la RT-PCR sea positivo, independientemente del resultado de ELISA, ninguno de los animales presentes en la cuarentena accederá al centro y se recomendará el sacrificio de los mismos.

d) Siempre y cuando el resultado de la segunda extracción no indique que todos los animales deben abandonar la cuarentena :

o Si en el segundo control serológico aparecen nuevos animales serológicamente positivos (ELISA+) pero todos los animales se mantienen negativos en la PCR, se realizará un tercer control lo antes posible tras la segunda extracción. Y se interpretarán los resultados según la siguiente tabla y lo indicado en apartados anteriores para la interpretación de los resultados del segundo análisis:

	Extracción 1		Extracción 2		Extracción 3		Sacrificio Recomendado
Motivo análisis	CUARENTENA		Protocolo PRRS		Protocolo PRRS		Serológicamente positivos
Técnica	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	
1r o 2n control serológico CUARENTENA	(-)	(-)	NP	NP	NP		NO
Control con resultados positivos	(-)	(+)	NP	NP	NP		SI (todos)
	(+)	(-)	(-)	(-)	NP		NO
	(+)	(-)	(+) Inicial	(-)	NP		SI (sólo el serológicamente positivo)
	(+)	(-)	(+) Otros	(-)	(-)	(-)	NO
	(+)	(-)	(-)	(+)	NP		SI (todos)
	(+)	(-)	(+)	(+)	NP		SI (todos)
	(+)	(+)	NP	NP	NP		SI (todos)

(*) NP: No procede