

REGLAMENTO (UE) N° 1148/2014 DE LA COMISIÓN**de 28 de octubre de 2014****que modifica los anexos II, VII, VIII, IX y X del Reglamento (CE) n° 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen disposiciones para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiformes transmisibles****(Texto pertinente a efectos del EEE)**

LA COMISIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea,

Visto el Reglamento (CE) n° 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de mayo de 2001, por el que se establecen disposiciones para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiformes transmisibles ⁽¹⁾, y, en particular, su artículo 23, párrafo primero,

Considerando lo siguiente:

- (1) El Reglamento (CE) n° 999/2001 establece normas para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) en bovinos, ovinos y caprinos. Se aplica a la producción y comercialización de animales vivos y productos de origen animal y, en algunos casos específicos, a su exportación.
- (2) El anexo II del Reglamento (CE) n° 999/2001 contiene normas que regulan la determinación del estatus de los Estados miembros, terceros países o sus regiones con respecto a la encefalopatía espongiforme bovina (EEB). Dichas normas se basan en normas internacionales establecidas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en su Código Sanitario para los Animales Terrestres («el Código»). En el capítulo dedicado a la EEB de la versión de 2013 del Código se ha sustituido la expresión «evaluación de la difusión» por el término «evaluación de la introducción», y se ha modificado de forma importante el cuadro en el que figuran los objetivos de puntos para países o regiones a fin de responder mejor a las necesidades de los países con una población bovina pequeña o muy pequeña. Dichas modificaciones deben recogerse en el anexo II.
- (3) El anexo VII, capítulo B, punto 2.2.1, del Reglamento (CE) n° 999/2001 hace referencia a los métodos y protocolos previstos en el anexo X. Debe modificarse la redacción de dicho punto para reflejar las modificaciones del anexo X introducidas por el presente acto.
- (4) El anexo VIII, capítulo A, del Reglamento (CE) n° 999/2001 establece normas que regulan el comercio en la Unión de animales vivos, esperma y embriones, incluida la exención de los embriones ovinos homocigotos ARR de cualquier otro requisito relativo a la tembladera clásica en el comercio en el interior de la Unión. El 24 de enero de 2013, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) adoptó un dictamen científico sobre el riesgo de transmisión de la tembladera clásica mediante la transferencia de embriones recolectados *in vivo* en ovinos ⁽²⁾, en el que concluía que se podía considerar insignificante el riesgo de transmisión de la tembladera clásica mediante la implantación de embriones homocigotos o heterocigotos de ovinos ARR, a condición de que se aplicasen las recomendaciones y procedimientos relativos a la transferencia de embriones de la OIE. Por tanto, es preciso modificar las disposiciones pertinentes del anexo VIII para eximir también de cualquier otro requisito relacionado con la tembladera clásica al comercio de embriones heterocigotos de ovinos ARR en el seno de la Unión.
- (5) En algunas versiones lingüísticas del Reglamento (CE) n° 999/2001 hay una incoherencia terminológica entre los puntos 1.2 y 1.3 de la sección A del capítulo A del anexo VIII y el resto del Reglamento. En aras de la coherencia, debe utilizarse el mismo término en las versiones lingüísticas en cuestión.
- (6) El anexo VIII, capítulo A, sección A, punto 2, del Reglamento (CE) n° 999/2001 establece las normas que regulan la aprobación del estatus de riesgo insignificante de tembladera clásica de un Estado miembro o zona de este. El 4 de julio de 2013, Austria presentó a la Comisión la documentación justificativa adecuada. Dado el resultado favorable del examen de esta solicitud efectuado por la Comisión, Austria debe ser incluida en la lista de países con un riesgo insignificante de tembladera clásica.
- (7) En el anexo VIII, capítulo A, sección A, punto 3.2, del Reglamento (CE) n° 999/2001 figura una lista de los Estados miembros que disponen de un programa nacional de control de la tembladera clásica que ha sido aprobado. Como Austria debe figurar en la lista de Estados miembros con un riesgo insignificante de tembladera clásica, debe ser suprimido de la lista de Estados miembros que disponen de un programa nacional de control de la tembladera clásica que ha sido aprobado, ya que este estatuto ofrece garantías superiores a las del programa de control.

⁽¹⁾ DO L 147 de 31.5.2001, p. 1.⁽²⁾ EFSA Journal 2013; 11(2):3080.

- (8) El anexo IX, capítulo H, del Reglamento (CE) n° 999/2001 establece las condiciones de importación en la Unión de espermatozoides y embriones de ovino y caprino. Estas normas de importación deben actualizarse para reflejar las modificaciones del anexo VIII efectuadas por el presente acto.
- (9) El anexo X del Reglamento (CE) n° 999/2001 establece los métodos de análisis aplicables a las pruebas de EET en bovinos, ovinos y caprinos. Dicho anexo debe ser revisado para actualizar la información relativa a los laboratorios designados, ajustar la referencia a varias orientaciones, armonizar algunos términos técnicos y aclarar el proceso de realización de pruebas diferenciadoras ante casos positivos de EET en ovinos y caprinos, conforme a los conocimientos científicos más recientes y las prácticas actuales en la Unión.
- (10) En el anexo X, capítulo C, punto 4, del Reglamento (CE) n° 999/2001 se establece una serie de pruebas de diagnóstico rápido autorizadas para el seguimiento de las EET en bovinos, ovinos y caprinos. El 18 de septiembre de 2013, IDEXX solicitó que se cambiase el nombre de la prueba «IDEXX HerdChek BSE-Scrapie Antigen Test Kit, EIA» por «HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories)». El 2 de mayo de 2013, el laboratorio de referencia de la UE para las EET aprobó el nuevo prospecto de esta prueba. Por otra parte, el 6 de diciembre de 2013, Enfer Group comunicó que había dejado de fabricar el kit de diagnóstico de la EET Enfer, versión 3, y solicitó la supresión de dicho kit de la lista de pruebas rápidas de la EEB autorizadas en bovinos. Por tanto, procede adaptar en consecuencia las listas del anexo X, capítulo C, punto 4.
- (11) Para que los Estados miembros tengan tiempo suficiente para adaptar sus procedimientos de certificación para embriones de ovino relativos a la tembladera, algunas modificaciones introducidas mediante el presente Reglamento deben aplicarse a partir del 1 de enero de 2015.
- (12) Por tanto, procede modificar el Reglamento (CE) n° 999/2001 en consecuencia.
- (13) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité Permanente de la Cadena Alimentaria y de Sanidad Animal.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

Los anexos II, VII, VIII, IX y X del Reglamento (CE) n° 999/2001 se modifican conforme a lo dispuesto en el anexo del presente Reglamento.

Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor el vigésimo día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

Las letras a), b) y e) del punto 3 y el punto 4 del anexo se aplicarán a partir del 1 de enero de 2015.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 28 de octubre de 2014.

Por la Comisión
El Presidente
José Manuel BARROSO

ANEXO

Los anexos II, VII, VIII, IX y X del Reglamento (CE) n° 999/2001 quedan modificados como sigue:

1) El anexo II queda modificado como sigue:

a) en el capítulo B, los puntos 1 y 2 se sustituyen por el texto siguiente:

«1. **Estructura del análisis del riesgo**

El análisis del riesgo comprenderá una evaluación de la introducción y una evaluación de la exposición.

2. **Evaluación de la introducción (faceta externa del problema)**

2.1. La evaluación de la introducción consistirá en estimar la probabilidad de que el agente de la EEB se haya introducido en el país o la región a través de mercancías potencialmente contaminadas con un agente de EEB, o de que ya esté presente en el país o la región.

Deberán tenerse en cuenta los siguientes factores de riesgo:

- a) la presencia o ausencia del agente de la EEB en el país o la región y, si está presente, su prevalencia de acuerdo con los resultados de las actividades de vigilancia;
- b) la producción de harina de carne y hueso o de chicharrones a partir de la población autóctona de rumiantes;
- c) la harina de carne y hueso y los chicharrones importados;
- d) los bovinos, ovinos y caprinos importados;
- e) los piensos e ingredientes de piensos importados;
- f) los productos de origen rumiante importados y destinados al consumo humano que puedan haber contenido tejidos de los enumerados en el punto 1 del anexo V y puedan haber servido de alimento a animales bovinos;
- g) los productos de origen rumiante importados para uso *in vivo* en los bovinos.

2.2. Al realizar la evaluación de la introducción deben tenerse en cuenta los planes especiales de erradicación, la vigilancia y otras investigaciones epidemiológicas (en especial la vigilancia a que se somete la población bovina para detectar la presencia de la EEB) que sean pertinentes en relación con los factores de riesgo enumerados en el punto 2.1.»;

b) en el punto 3 del capítulo D, se sustituye el cuadro 2 por el siguiente:

«Cuadro 2

Objetivos de puntos correspondientes a diferentes tamaños de población bovina adulta en un país o una región

Objetivos de puntos correspondientes a un país o región		
Tamaño de la población bovina adulta (veinticuatro meses o más)	Vigilancia de tipo A	Vigilancia de tipo B
> 1 000 000	300 000	150 000
900 001-1 000 000	214 600	107 300
800 001-900 000	190 700	95 350
700 001-800 000	166 900	83 450
600 001-700 000	143 000	71 500

Objetivos de puntos correspondientes a un país o región		
Tamaño de la población bovina adulta (veinticuatro meses o más)	Vigilancia de tipo A	Vigilancia de tipo B
500 001-600 000	119 200	59 600
400 001-500 000	95 400	47 700
300 001-400 000	71 500	35 750
200 001-300 000	47 700	23 850
100 001-200 000	22 100	11 500
90 001-100 000	19 900	9 950
80 001-90 000	17 700	8 850
70 001-80 000	15 500	7 750
60 001-70 000	13 000	6 650
50 001-60 000	11 000	5 500
40 001-50 000	8 800	4 400
30 001-40 000	6 600	3 300
20 001-30 000	4 400	2 200
10 001-20 000	2 100	1 050
9 001-10 000	1 900	950
8 001-9 000	1 600	800
7 001-8 000	1 400	700
6 001-7 000	1 200	600
5 001-6 000	1 000	500
4 001-5 000	800	400
3 001-4 000	600	300
2 001-3 000	400	200
1 001-2 000	200	100»

2) En el anexo VII, el primer párrafo del punto 2.2.1 del capítulo B se sustituye por el texto siguiente:

«Si los resultados de las pruebas moleculares secundarias realizadas de conformidad con los métodos y protocolos establecidos en el anexo X, capítulo C, punto 3.2, letra c), inciso ii), no permiten descartar una EEB, se procederá sin demora a la matanza y destrucción completa de todos los animales, embriones y óvulos identificados en el estudio mencionado en el punto 1, letra b), guiones segundo a quinto;».

3) En el anexo VIII, la sección A del capítulo A queda modificada como sigue:

a) en el punto 1.2, la letra g) se sustituye por el texto siguiente:

«g) Solamente pueden introducirse los embriones u óvulos de ovinos y caprinos siguientes:

i) los procedentes de donantes que hayan permanecido desde su nacimiento en un Estado miembro con riesgo insignificante de tembladera clásica, o en una explotación con riesgo controlado o insignificante de tembladera clásica, o que cumplan los requisitos siguientes:

- están permanentemente identificados y es posible identificar la explotación en que nacieron;
- han permanecido desde su nacimiento en explotaciones en las que no se ha confirmado ningún caso de tembladera clásica durante su estancia;
- no presentaban signos clínicos de tembladera clásica en el momento de la recogida de los embriones u óvulos;

ii) los embriones u óvulos de ovinos que presenten al menos un alelo ARR.»;

b) en el punto 1.3, la letra g) se sustituye por el texto siguiente:

«g) Solamente pueden introducirse los embriones u óvulos de ovinos y caprinos siguientes:

i) los procedentes de donantes que hayan permanecido desde su nacimiento en un Estado miembro con riesgo insignificante de tembladera clásica, o en una explotación con riesgo controlado o insignificante de tembladera clásica, o que cumplan los requisitos siguientes:

- están permanentemente identificados y es posible identificar la explotación en que nacieron;
- han permanecido desde su nacimiento en explotaciones en las que no se ha confirmado ningún caso de tembladera clásica durante su estancia;
- no presentaban signos clínicos de tembladera clásica en el momento de la recogida de los embriones u óvulos;

ii) los embriones u óvulos de ovinos que presenten al menos un alelo ARR.»;

c) en el punto 2, se añade el punto 3 siguiente:

«2.3. Los Estados miembros o zonas de un Estado miembro con un riesgo insignificante de tembladera clásica son los siguientes:

- Austria.»;

d) el punto 3.2 se sustituye por el texto siguiente:

«3.2. Quedan aprobados los programas nacionales de control de la tembladera de los Estados miembros siguientes:

- Dinamarca,
- Finlandia,
- Suecia.»;

e) en el punto 4.2, la letra e) se sustituye por el texto siguiente:

«e) en el caso de embriones de ovinos, que presenten al menos un alelo ARR.».

4) En el anexo IX, el inciso ii) del punto 2 del capítulo H se sustituye por el texto siguiente:

«ii) en el caso de embriones de ovinos, los embriones presentan al menos un alelo ARR.».

5) El anexo X se sustituye por el texto siguiente:

«ANEXO X

LABORATORIOS DE REFERENCIA, MUESTREO Y MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

CAPÍTULO A

Laboratorios nacionales de referencia

1. Los laboratorios nacionales de referencia deberán:

- a) disponer de instalaciones y expertos que les permitan señalar en cualquier momento, y especialmente cuando surjan los primeros síntomas de la enfermedad de que se trate, el tipo y la cepa del agente causante de las EET, y confirmar los resultados obtenidos por los laboratorios de diagnóstico oficiales; cuando no sean capaces de identificar la cepa del agente, deberán establecer un procedimiento que garantice que la identificación de la cepa se encomiende al laboratorio de referencia de la UE;
- b) comprobar los métodos de diagnóstico utilizados en los laboratorios de diagnóstico oficiales;
- c) responsabilizarse de la coordinación de las normas y los métodos de diagnóstico dentro del Estado miembro. Para ello:
 - podrán suministrar reactivos de diagnóstico a los laboratorios de diagnóstico oficiales,
 - deberán controlar la calidad de todos los reactivos de diagnóstico utilizados en el Estado miembro,
 - deberán organizar periódicamente pruebas comparativas,
 - deberán conservar los agentes causantes de la enfermedad o los tejidos pertinentes que los contengan que se hayan aislado de los casos confirmados en el Estado miembro,
 - deberán encargarse de confirmar los resultados obtenidos en los laboratorios de diagnóstico;
- d) deberán cooperar con el laboratorio de referencia de la UE, lo que incluye la participación en las pruebas comparativas periódicas organizadas por el laboratorio de referencia de la UE. Si un laboratorio nacional de referencia no supera la prueba comparativa organizada por el laboratorio de referencia de la UE, adoptará inmediatamente todas las medidas correctoras necesarias para corregir la situación y superar con éxito la repetición de la prueba comparativa o la próxima prueba comparativa organizada por el laboratorio de referencia de la UE.

2. No obstante lo dispuesto en el punto 1, los Estados miembros que no dispongan de un laboratorio nacional de referencia deberán recurrir a los servicios del laboratorio de referencia de la UE o de los laboratorios nacionales de referencia situados en otros Estados miembros de la UE o de la Asociación Europea de Libre Comercio (AELC).

3. Los laboratorios nacionales de referencia son los siguientes:

Austria:	Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Robert Koch Gasse 17 A-2340 Mödling
Bélgica:	CERVA-CODA-VAR Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Veterinary and Agrochemical Research Centre Groeselenberg 99 B-1180 Bruxelles
Bulgaria:	Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт 'Проф. Д-р Георги Павлов' Национална референтна лаборатория 'Трансмисивни спонгиозни енцефалопатии' бул. 'Пенчо Славейков' 15 София 1606 (National Diagnostic Veterinary Research Institute "Prof. Dr. Georgi Pavlov", National Reference Laboratory for Transmissible Spongiform Encephalopathies, 15 Pencho Slaveykov Blvd., 1606 Sofia)

Croacia:	Hrvatski veterinarski institut, Savska Cesta 143 10000 Zagreb
Chipre:	State Veterinary Laboratories Veterinary Services CY-1417 Athalassa Nicosia
República Checa:	Státní veterinární ústav Jihlava (State Veterinary Institute Jihlava) National Reference Laboratory for BSE and Animal TSEs Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Dinamarca:	Veterinærinstituttet Danmarks Tekniske Universitet Bülowsvej 27 DK-1870 Frederiksberg C (National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, 27, Bülowsvej, DK-1870 Frederiksberg C)
Estonia:	Veterinaar- ja Toidulaboratoorium (Estonian Veterinary and Food Laboratory) Kreutzwaldi 30 Tartu 51006
Finlandia:	Finnish Food Safety Authority Evira Research and Laboratory Department Veterinary Virology Research Unit- TSEs Mustialankatu 3 FI-00790 Helsinki
Francia:	ANSES-Lyon, Unité MND 31, avenue Tony Garnier 69 364 LYON CEDEX 07
Alemania:	Friedrich-Loeffler-Institut Institute for Novel and Emerging Infectious Diseases at the Friederich-Loeffler-Institut Federal Research Institute for Animal Health Suedufer 10 D-17493 Greifswald Insel Riems
Grecia:	Ministry of Agriculture — Veterinary Laboratory of Larissa 6th km of Larissa — Trikala Highway GR-41110 Larissa
Hungría:	Veterinary Diagnostic Directorate, National Food Chain Safety Office (VDD NFCSO) Tábornok u. 2 1143 Budapest
Irlanda:	Central Veterinary Research Laboratory Department of Agriculture, Food and the Marine Backweston Campus Celbridge Co. Kildare

Italia:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta — CEA Via Bologna, 148 I-10154 Torino
Letonia:	Institute of Food Safety, Animal Health and Environment (BIOR) Lejupes Str. 3 Riga LV 1076
Lituania:	National Food and Veterinary Risk Assessment Institute J. Kairiūkščio str. 10 LT-08409 Vilnius
Luxemburgo:	CERVA-CODA-VAR Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Veterinary and Agrochemical Research Centre Groeselenberg 99 B-1180 Bruxelles
Malta:	Veterinary Diagnostic Laboratory Department of Food Health and Diagnostics Veterinary Affairs and Fisheries Division Ministry for Rural Affairs and the Environment Albert Town Marsa
Países Bajos:	Central Veterinary Institute of Wageningen UR Edelhertweg 15 8219 PH Lelystad P.O. Box 2004 NL-8203 AA Lelystad
Polonia:	Państwowy Instytut Weterynaryjny (PIWet) 24-100 Puławy al. Partyzantów 57
Portugal:	Setor diagnóstico EET Laboratório de Patologia Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Rua General Morais Sarmento 1500-311 Lisboa
Rumanía:	Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală (Institute for Diagnosis and Animal Health) Department of Morphology Strada Dr. Staicovici nr. 63, 5 București 050557
Eslovaquia:	State Veterinary Institute Zvolen Pod dráhami 918 SK-960 86, Zvolen
Eslovenia:	University of Ljubljana, Veterinary faculty National Veterinary Institute Gerbičeva 60 SI-1000 Ljubljana

España:	Laboratorio Central de Veterinaria (Algete) Ctra. M-106 pk 1,4 28110 Algete (Madrid)
Suecia:	National Veterinary Institute S-751 89 Uppsala
Reino Unido:	Animal Health and Veterinary Laboratories Agency Woodham Lane New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB

CAPÍTULO B

Laboratorio de referencia de la UE

1. El laboratorio de referencia de la UE encargado de las EET es:

The Animal Health and Veterinary Laboratories Agency
Woodham Lane
New Haw
Addlestone
Surrey KT15 3NB
Reino Unido

2. Las funciones y los cometidos del laboratorio de referencia de la UE son los siguientes:

- a) en consulta con la Comisión, coordinar los métodos empleados en los Estados miembros para diagnosticar las EET y la determinación del genotipo de la proteína priónica en los ovinos, específicamente mediante las medidas siguientes:
 - almacenar y suministrar los tejidos que contengan los agentes de las EET para el desarrollo o la producción de las pruebas de diagnóstico correspondientes o para la clasificación de las cepas de los agentes de las EET,
 - suministrar sueros patrón y otros reactivos de referencia a los laboratorios nacionales de referencia para normalizar las pruebas y los reactivos utilizados en los Estados miembros,
 - crear y mantener una colección de tejidos pertinentes que contengan los agentes y las cepas de las EET,
 - organizar periódicamente pruebas comparativas de los procedimientos de diagnóstico de las EET y la determinación del genotipo de la proteína priónica en los ovinos a escala de la UE,
 - recoger y cotejar datos e información sobre los métodos de diagnóstico utilizados y los resultados de las pruebas efectuadas en la UE,
 - caracterizar los agentes aislados causantes de las EET con los métodos más avanzados de que se disponga para lograr una mayor comprensión de la epidemiología de la enfermedad,
 - mantenerse al corriente de las novedades sobre el seguimiento, la epidemiología y la prevención de las EET en todo el mundo,
 - acumular conocimientos especializados sobre las enfermedades priónicas para conseguir diagnósticos diferenciales rápidos,
 - adquirir conocimientos profundos sobre la preparación y el uso de los métodos de diagnóstico empleados para el control y la erradicación de las EET;
- b) colaborar activamente en la identificación de los brotes de EET en los Estados miembros, recibiendo muestras de animales infectados de EET para realizar análisis confirmatorios del diagnóstico, caracterizaciones y estudios epidemiológicos;
- c) facilitar la formación o la reconversión profesional de los expertos en diagnósticos de laboratorio con vistas a la armonización de las técnicas de diagnóstico en toda la UE.

CAPÍTULO C

Muestreo y pruebas de laboratorio**1. Muestreo**

Todas las muestras que deban examinarse para detectar la presencia de EET se recogerán utilizando los métodos y protocolos establecidos en la última edición del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (en lo sucesivo, "el Manual"). Además de tales métodos y protocolos de la OIE, o a falta de ellos, y para garantizar la disponibilidad de suficiente material, la autoridad competente velará por que se apliquen métodos y protocolos de muestreo de acuerdo con las directrices publicadas por el laboratorio de referencia de la UE.

En particular, la autoridad competente recogerá los tejidos apropiados, según el criterio científico disponible y las directrices del laboratorio de referencia de la UE, para garantizar la detección de todas las cepas conocidas de EET en pequeños rumiantes, y conservará como mínimo la mitad de los tejidos recogidos frescos, pero no congelados, hasta que la prueba de diagnóstico rápido dé resultado negativo. Cuando el resultado sea positivo o dudoso, el resto de los tejidos serán sometidos a pruebas de confirmación y serán tratados con arreglo a las directrices del laboratorio de referencia relativas a la realización de pruebas diferenciadoras y la clasificación-TSE *strain characterisation in small ruminants: A technical handbook for National Reference Laboratories in the EU* (Caracterización de cepas de EET en pequeños rumiantes: Manual técnico para los laboratorios nacionales de referencia de la UE).

Las muestras se marcarán correctamente para que pueda identificarse al animal del que han sido tomadas.

2. Laboratorios

Todos los exámenes de laboratorio relativos a las EET se llevarán a cabo en laboratorios oficiales de diagnóstico designados a este efecto por la autoridad competente.

3. Métodos y protocolos**3.1. Pruebas de laboratorio para detectar la presencia de EEB en animales bovinos****a) Casos presuntos**

Las muestras de bovinos enviadas para análisis de laboratorio con arreglo a lo dispuesto en el artículo 12, apartado 2, se someterán inmediatamente a un examen de confirmación mediante, al menos, uno de los siguientes métodos y protocolos establecidos en la última edición del Manual:

- i) método inmunohistoquímico,
- ii) inmunotransferencia,
- iii) observación de las fibrillas características por microscopía electrónica,
- iv) examen histopatológico,
- v) la combinación de pruebas de diagnóstico rápido establecida en el tercer párrafo.

Si el examen histopatológico es dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Las pruebas de diagnóstico rápido pueden utilizarse tanto para el cribado primario de casos presuntos como, si son dudosas o positivas, para la confirmación subsiguiente, conforme a las directrices del laboratorio de referencia de la UE *OIE rules for the official confirmation of BSE in bovines (based on an initial reactive result in an approved rapid test) by using a second rapid test* (Normas de la OIE para la confirmación de EEB en bovinos [a partir de un resultado positivo en una prueba de diagnóstico rápido autorizada] mediante la utilización de una segunda prueba de diagnóstico rápido), y a condición de que:

- i) la confirmación se lleve a cabo en un laboratorio nacional de referencia para las EET,
- ii) una de las dos pruebas de diagnóstico rápido sea la inmunotransferencia, y

- iii) la segunda prueba de diagnóstico rápido utilizada:
 - incluya un tejido de control negativo y una muestra de EEB como tejido de control positivo,
 - y sea de otro tipo que la prueba utilizada para el cribado primario, y
- iv) si la primera prueba de diagnóstico rápido es de inmunotransferencia, su resultado se documente y se envíe la imagen de la membrana al laboratorio nacional de referencia para las EET, y
- v) si el resultado del cribado primario no se confirma por la prueba de diagnóstico rápido subsiguiente, la muestra se someta a examen por uno de los otros métodos de confirmación; si a tal fin se usa un examen histopatológico que resulta dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Si el resultado de uno de los exámenes de confirmación mencionados en los incisos i) a v) del primer párrafo es positivo, los animales se considerarán casos positivos de EEB.

b) Seguimiento de la EEB

Se someterán a una prueba de diagnóstico rápido las muestras de bovinos enviadas a un laboratorio para la realización de pruebas con arreglo a las disposiciones del anexo III, capítulo A, parte I.

Cuando el resultado de la prueba de diagnóstico rápido sea dudoso o positivo, la muestra se someterá inmediatamente a un examen de confirmación mediante, al menos, uno de los siguientes métodos y protocolos establecidos en la última edición del Manual:

- i) método inmunohistoquímico,
- ii) inmunotransferencia,
- iii) observación de las fibrillas características por microscopía electrónica,
- iv) examen histopatológico,
- v) la combinación de pruebas de diagnóstico rápido establecida en el párrafo cuarto.

Si el examen histopatológico es dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Las pruebas de diagnóstico rápido pueden utilizarse tanto para el cribado primario como, si son dudosas o positivas, para la confirmación subsiguiente, conforme a las directrices del laboratorio de referencia de la UE *OIE rules for the official confirmation of BSE in bovines (based on an initial reactive result in an approved rapid test) by using a second rapid test* (Normas de la OIE para la confirmación de EEB en bovinos [a partir de un resultado positivo en una prueba de diagnóstico rápido autorizada] mediante la utilización de una segunda prueba de diagnóstico rápido), y a condición de que:

- i) la confirmación se lleve a cabo en un laboratorio nacional de referencia para las EET,
- ii) una de las dos pruebas de diagnóstico rápido sea la inmunotransferencia, y
- iii) la segunda prueba de diagnóstico rápido utilizada:
 - incluya un tejido de control negativo y una muestra de EEB como tejido de control positivo,
 - y sea de otro tipo que la prueba utilizada para el cribado primario, y
- iv) si la primera prueba de diagnóstico rápido es de inmunotransferencia, su resultado se documente y se envíe la imagen de la membrana al laboratorio nacional de referencia para las EET, y
- v) si el resultado del cribado primario no se confirma por la prueba de diagnóstico rápido subsiguiente, la muestra se someta a examen por uno de los otros métodos de confirmación; si a tal fin se usa un examen histopatológico que resulta dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Un animal se considerará como caso positivo de EEB si el resultado de la prueba de diagnóstico rápido es positivo o dudoso y si, además, es positiva al menos una de las pruebas de confirmación mencionadas en los incisos i) a v) del párrafo segundo.

c) Examen adicional de los casos positivos de EEB

Las muestras de los casos positivos de EEB se enviarán a un laboratorio, designado por la autoridad competente, que haya superado las últimas pruebas de aptitud del laboratorio de referencia de la UE para las pruebas diferenciadoras de casos confirmados de EEB; allí se someterán a otros análisis según lo establecido en el método del laboratorio de referencia de la UE para la clasificación de las cepas de EET bovina (método de dos etapas para la clasificación provisional de las cepas de EET bovinas).

3.2. Pruebas de laboratorio para detectar la presencia de EET en animales ovinos y caprinos

a) Casos presuntos

Las muestras de bovinos y caprinos enviadas para análisis de laboratorio con arreglo a lo dispuesto en el artículo 12, apartado 2, se someterán inmediatamente a un examen de confirmación mediante, al menos, uno de los siguientes métodos y protocolos establecidos en la última edición del Manual:

- i) método inmunohistoquímico,
- ii) inmunotransferencia,
- iii) observación de las fibrillas características por microscopía electrónica,
- iv) examen histopatológico.

Si el examen histopatológico es dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Las pruebas de diagnóstico rápido pueden utilizarse para el cribado primario de casos presuntos. No podrán utilizarse para la confirmación subsiguiente.

Cuando el resultado de la prueba de diagnóstico rápido utilizada para el cribado primario de casos presuntos sea dudoso o positivo, la muestra se someterá a examen mediante uno de los métodos de confirmación mencionados en los incisos i) a iv) del párrafo primero. Si a tal fin se usa un examen histopatológico que resulta dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por uno de los otros métodos y protocolos de confirmación.

Si el resultado de uno de los exámenes de confirmación mencionados en los incisos i) a iv) del primer párrafo es positivo, el animal se considerará un caso positivo de EET y se procederá a otros de los análisis mencionados en la letra c).

b) Seguimiento de la EET

A fin de garantizar la detección de todas las cepas conocidas de EET, se examinarán mediante una prueba de diagnóstico rápido las muestras procedentes de animales ovinos y caprinos enviadas al laboratorio para la realización de pruebas con arreglo a las disposiciones del anexo III, capítulo A, parte II (Seguimiento de animales ovinos y caprinos).

Cuando los resultados de la prueba de diagnóstico rápido sean inconcluyentes o positivos, los tejidos muestreados se enviarán inmediatamente a un laboratorio oficial para exámenes de confirmación mediante histopatología, inmunohistoquímica, inmunotransferencia o demostración de las fibrillas características mediante microscopía electrónica, conforme a lo establecido en la letra a). Si el resultado del examen de confirmación es negativo o no concluyente, los tejidos serán sometidos a un nuevo examen mediante inmunohistoquímica o inmunotransferencia.

Si el resultado de uno de los exámenes de confirmación es positivo, el animal se considerará un caso positivo de EET y se procederá a otros de los análisis mencionados en la letra c).

c) Examen adicional de los casos positivos de EET

i) Pruebas moleculares primarias mediante inmunotransferencia diferenciadora

Las muestras de los presuntos casos clínicos y de animales sometidos a las pruebas conforme al anexo III, capítulo A, parte II, puntos 2 y 3 que se consideren casos positivos de EET pero que no sean casos de tembladera atípica tras los exámenes contemplados en las letras a) o b), o que presenten características que, a juicio del laboratorio, deben ser investigadas, serán examinadas utilizando un método diferenciador de inmunotransferencia recogido en las directrices del laboratorio de referencia de la UE por un laboratorio oficial de diagnóstico designado por la autoridad competente que haya superado las últimas pruebas de aptitud del laboratorio de referencia de la UE para la utilización de dicho método.

ii) Pruebas moleculares secundarias con métodos de pruebas moleculares adicionales

Los casos de EET en los cuales las pruebas moleculares primarias contempladas en el inciso i) no permitan descartar la presencia de EEB de acuerdo con las directrices publicadas por el laboratorio de referencia de la UE serán remitidos inmediatamente al laboratorio de referencia de la UE, junto con toda la información pertinente disponible. Las muestras serán sometidas a una investigación adicional y a confirmación mediante al menos un método alternativo, distinto inmunoquímicamente del método molecular primario inicial, dependiendo del volumen y la naturaleza del material enviado, conforme a las directrices del laboratorio de referencia de la UE. Estas pruebas adicionales se realizarán en los siguientes laboratorios autorizados para el método correspondiente:

Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
31, avenue Tony Garnier
BP 7033
F-69342 Lyon Cedex

Commissariat à l'Energie Atomique
18, route du Panorama
BP 6
F-92265 Fontenay-aux-Roses Cedex

Animal Health and Veterinary Laboratories Agency
Woodham Lane
New Haw
Addlestone
Surrey KT15 3NB
Reino Unido

El laboratorio de referencia de la UE interpretará los resultados ayudado por un panel de expertos, denominado Grupo de Expertos de Caracterización de Cepas (STEG), en el que participará un representante del correspondiente laboratorio nacional de referencia. Se informará de inmediato a la Comisión de los resultados de esa interpretación.

iii) Bioanálisis en ratones

Las muestras que den indicios de EEB o que sean dudosas con respecto a la EEB tras las pruebas moleculares secundarias serán sometidas a análisis complementarios mediante bioanálisis en ratones a fin de obtener una confirmación definitiva. La naturaleza o la cantidad de material disponible puede influir en la concepción del bioanálisis, que será autorizado por el laboratorio de referencia de la UE asistido por el STEG caso por caso. Los bioanálisis serán realizados por el laboratorio de referencia de la UE o por laboratorios designados por este.

El laboratorio de referencia de la UE interpretará los resultados, con la asistencia del STEG. Se informará de inmediato a la Comisión de los resultados de esa interpretación.

3.3. Pruebas de laboratorio para detectar la presencia de EET en especies distintas a las mencionadas en los puntos 3.1 y 3.2

Los métodos y protocolos establecidos para las pruebas realizadas con el fin de confirmar la sospecha de la presencia de una EET en una especie distinta a la bovina, la ovina y la caprina incluirán, al menos, un examen histopatológico de tejido cerebral. La autoridad competente también podrá pedir la realización de pruebas de laboratorio como la inmunohistoquímica, la inmunotransferencia o la demostración de las fibrillas características mediante microscopía electrónica, o de otros métodos diseñados para detectar la forma de la proteína del prión asociada a la enfermedad. En cualquier caso, si el examen histopatológico inicial es negativo o dudoso, deberá realizarse por lo menos otro examen de laboratorio. Como mínimo, deberán llevarse a cabo tres exámenes diferentes con resultados positivos en el caso de que haya una primera aparición de la enfermedad.

En particular, en caso de que se sospeche la presencia de la EEB en una especie distinta de los bovinos, los casos se remitirán al laboratorio de referencia de la UE, asistido por el STEG, para una caracterización complementaria.

4. Pruebas de diagnóstico rápido

A efectos de la realización de las pruebas de diagnóstico rápido de conformidad con el artículo 5, apartado 3, y con el artículo 6, apartado 1, solo se emplearán los siguientes métodos como pruebas de diagnóstico rápido para el seguimiento de la EEB en bovinos:

- prueba de inmunotransferencia basada en un procedimiento de Western blot para la detección del fragmento PrPRes resistente a la proteinasa K (Prionics-Check Western test),
- inmunoanálisis de doble anticuerpo (método sándwich) para la detección de PrPRes (protocolo de ensayo corto), efectuado tras una fase de desnaturalización y otra de concentración (Bio-Rad TeSeE SAP rapid test),
- inmunoanálisis basado en una microplaca (ELISA) para la detección de PrPRes resistente a la proteinasa K con anticuerpos monoclonales (Prionics-Check LIA test),
- inmunoanálisis en el que se utilice un polímero químico para la captura selectiva de PrPSc y un anticuerpo de detección monoclonal dirigido contra regiones conservadas de la molécula PrP (IDEXX HerdChek BSE Antigen Test Kit, EIA y HerdChek BSE-Scrapie Antigen [IDEXX Laboratories]),
- inmunoanálisis de flujo lateral que utilice dos anticuerpos monoclonales diferentes para la detección de fracciones de PrP resistentes a la proteinasa K (Prionics Check PrioSTRIP),
- inmunoanálisis de doble anticuerpo que utilice dos anticuerpos monoclonales diferentes dirigidos contra dos epítomos presentes en la PrPSc bovina en estado muy desplegado (Roboscreen Beta Prion BSE EIA Test Kit).

A efectos de la realización de las pruebas de diagnóstico rápido de conformidad con el artículo 5, apartado 3, y el artículo 6, apartado 1, solo se emplearán los siguientes métodos como pruebas de diagnóstico rápido para el seguimiento de las EET en ovinos y caprinos:

- inmunoanálisis de doble anticuerpo (método sándwich) para la detección de PrPRes (protocolo de ensayo corto), efectuado tras una fase de desnaturalización y otra de concentración (Bio-Rad TeSeE SAP rapid test),
- inmunoanálisis de doble anticuerpo (método sándwich) para la detección de PrPRes con el TeSeE Sheep/Goat Detection kit, efectuado tras una fase de desnaturalización y otra de concentración con el TeSeE Sheep/Goat Purification kit (Bio-Rad TeSeE Sheep/Goat rapid test),
- inmunoanálisis en el que se utilice un polímero químico para la captura selectiva de PrPSc y un anticuerpo de detección monoclonal dirigido contra regiones conservadas de la molécula PrP (HerdChek BSE-Scrapie Antigen [IDEXX Laboratories]),
- inmunoanálisis de flujo lateral que utilice dos anticuerpos monoclonales diferentes para la detección de fracciones de PrP resistentes a la proteinasa K (Prionics Check PrioSTRIP SR [protocolo de lectura visual]).

En todas las pruebas de diagnóstico rápido, la muestra de tejido utilizada debe ajustarse a las instrucciones de uso del fabricante.

Los fabricantes de las pruebas de diagnóstico rápido deberán disponer de un sistema de aseguramiento de la calidad aprobado por el laboratorio de referencia de la UE, que garantice que se mantiene el rendimiento de la prueba. Deberán asimismo proporcionar los protocolos de pruebas a dicho laboratorio.

Solo podrán introducirse modificaciones en las pruebas de diagnóstico rápido o en sus protocolos previa notificación al laboratorio de referencia de la UE, y siempre y cuando este considere que las modificaciones no alteran la sensibilidad, la especificidad ni la fiabilidad de la prueba. Esta conclusión deberá notificarse a la Comisión y a los laboratorios nacionales de referencia.

5. Pruebas alternativas

(Por determinar)».
