



**MANUAL PARA TOMA Y  
REMISIÓN DE MUESTRAS AL  
LABORATORIO NACIONAL DE  
REFERENCIA PARA LAS  
ENCEFALOPATÍAS  
ESPONGIFORMES  
TRANSMISIBLES (EETs).**

**LCV ALGETE**

**REV. ABRIL 2010**



***El presente Manual es un documento de trabajo para los Servicios Veterinarios Oficiales de las Comunidades Autónomas.***

***El objetivo de este documento es procurar la Coordinación entre los diferentes agentes implicados en la vigilancia y diagnóstico de las EETs, estableciendo unos criterios uniformes para la toma de muestras y su posterior remisión al Laboratorio Nacional de Referencia (Laboratorio Central de Veterinaria de Algete).***



## **LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA (LCV) DE ALGETE**

<b>CCAA:</b> MADRID	<b>Provincia:</b> MADRID
<b>Municipio:</b> Algete	
<b>Dirección:</b> Crta. Algete Km. 8,0	<b>D.P.:</b> 28110
<b>Teléfono:</b> 91 629 03 00	<b>Fax:</b> 91 629 05 98
<b>Directora:</b> Marta Vigo Martín	

## I. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LAS EETs

### 1.- VIGILANCIA EN GANADO BOVINO (EEB).

#### A.- VIGILANCIA ACTIVA:

El programa de seguimiento activo, va encaminado a la búsqueda efectiva de la enfermedad, mediante el control de determinadas poblaciones de animales de consumo y animales de riesgo.

Se realizará un seguimiento de las subpoblaciones de animales que se describen a continuación mediante la realización de **pruebas de diagnóstico rápido** en los laboratorios autorizados por las CCAA.

#### **A.1. Todos los animales sacrificados para consumo humano:**

Se realizarán pruebas de EEB a todos los animales bovinos mayores de los siguientes grupos de edad:

a) **Mayores de cuarenta y ocho meses** si se trata de animales nacidos en España o nacidos en el resto de países recogidos en el anexo de la Decisión 2010/66/CE, de la Comisión, de 5 de febrero de 2010, por la que se autoriza a determinados Estados miembros a revisar su programa anual de seguimiento de la EEB, siempre que se trate de:

1º. Animales sacrificados de manera normal para el consumo humano.

2º. O de animales sacrificados en el marco de la ejecución del Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales, siempre que en este último caso no presenten signos clínicos de la enfermedad.

b) **Mayores de treinta y seis meses** de edad si se trata de animales nacidos en España o nacidos en el resto de países recogidos en el anexo

de la Decisión 2010/66/CE, de la Comisión, de 5 de febrero de 2010 (ver ANEXO IV), que sean sometidos a un sacrificio de urgencia, o aquellos que muestren alguna sintomatología clínica de alguna enfermedad en la inspección ante-mortem, o sean sospechosos de padecer una enfermedad o hallarse en un estado de salud que puedan perjudicar a la salud de las personas salvo los previstos en el párrafo a).2º anterior.

c) **Mayores de treinta meses de edad**, en todos los supuestos de sacrificio en matadero, cuando hayan nacido en países no recogidos en el anexo de la Decisión 2010/66/CE, de la Comisión, de 5 de febrero de 2010 (ver ANEXO IV).

Se entiende como "sacrificio especial de urgencia", a todo sacrificio ordenado por un veterinario a raíz de un accidente o de trastornos fisiológicos y funcionales graves del animal. El sacrificio especial de urgencia podrá tener lugar fuera del matadero cuando el veterinario considere que el transporte del animal resulta imposible o supondría sufrimientos inútiles para el animal.

Se entiende como animales que muestren signos clínicos de alguna patología detectada en la inspección ante mortem, aquellos animales que, tras sufrir la inspección ante mortem, presenten síntomas, estén afectados o sean sospechosos de alguna enfermedad transmisible al hombre o a los animales (excluyendo las EETs, en cuyo caso se considerarían sospechosos de EETs), así como los animales con síntomas de una enfermedad o perturbación de su estado general que pueda motivar que sus carnes sean inadecuadas para el consumo humano. La consideración que tengan estos animales de "aptos para consumo humano" será determinada por los servicios veterinarios del matadero, en base a la normativa en vigor.

Se exceptuaran de esta consideración, los animales sin síntomas clínicos de la enfermedad, sacrificados en el marco de una campaña de erradicación de enfermedades de las establecidas en el Real Decreto 2611/1996, que serán considerados en el epígrafe que corresponde en función del destino final de esas canales.

## **A.2. Todos los animales muertos y no sacrificados para consumo humano mayores de 36 meses:**

Se realizarán pruebas de la EEB a todos los animales bovinos mayores de treinta y seis meses de edad que hayan muerto o hayan sido sacrificados, pero que no fueron sacrificados en el marco de una epidemia, como es el caso de la fiebre aftosa. No obstante, si se trata de animales nacidos en países no recogidos en el anexo de la Decisión 2010/66/CE, de la Comisión, de 5 de febrero de 2010 (ver ANEXO IV), se realizarán pruebas de la EEB a todos los animales bovinos mayores de veinticuatro meses.

Se incluyen específicamente las siguientes subpoblaciones:

1º Animales bovinos muertos en explotación o durante el transporte.

2º Animales bovinos que hayan sido sacrificados, pero no para consumo humano ni en el marco de una epidemia, bien en explotación o, excepcionalmente, en matadero hasta que se disponga de establecimientos o instalaciones específicas, incluidos animales campañas de erradicación de enfermedades de las establecidas en el Real Decreto 2611/1996, desvieje o similares no destinados a consumo humano.

NOTA: Todo animal que, habiendo mostrado síntomas compatibles con la EEB, muera o se sacrifique en la explotación, será clasificado dentro de la subpoblación de animal sospechoso, y por lo tanto se tratará como se describe en el apartado B a continuación.

Los animales bovinos sacrificados como aplicación de las medidas de erradicación de un foco de EEB, y pertenecientes a la población de riesgo (descendientes y cohorte de edad) se muestrearán todos en base a la investigación epidemiológica que se realice en ese foco.

En caso de que el resultado de las pruebas rápidas realizadas fuera **positivo o dudoso**, se remitirá la muestra para su análisis mediante **pruebas de confirmación** al Laboratorio Nacional de Referencia para las EET (LCV Algete).

## **B. - VIGILANCIA PASIVA.**

La vigilancia pasiva de la enfermedad consiste, básicamente, en la detección de animales positivos debido a la comunicación por parte de veterinarios o ganaderos/responsables de los animales o de la aparición de animales con sintomatología clínica compatible con EETs.

Todos los animales sospechosos por sintomatología (*definidos en el apartado 4.6. B de este programa*) se someterán a control, independientemente de su edad, mediante **pruebas de confirmación** en el Laboratorio Nacional de Referencia para las EET (LCV Algete).

Se someterán a control mediante pruebas de confirmación, establecidas en el Manual OIE:

**B.1. Todos los animales sospechosos por sintomatología** (todo animal vivo, sacrificado o muerto que presente o haya presentado anomalías neurológicas o de comportamiento o trastorno del SNC, con respecto a los cuales no se pueda establecer otro diagnóstico a tenor de un examen clínico, de la respuesta a un tratamiento, de un examen *post mortem* o tras un análisis de laboratorio *ante* o *post mortem*).

**B.2. Todos los animales de los grupos A1 y A2 antes especificados, cuya muestra haya resultado positiva o dudosa a test rápidos en los laboratorios autorizados.**

En todo momento, los animales descritos como sospechosos de padecer una EET (ANEXO I apartados B1 y B2) se someterán a control mediante métodos y protocolos de confirmación, establecidos en el Manual OIE.

Cuando el resultado del examen histopatológico sea dudoso o negativo, o cuando el material se haya autolisado, los tejidos se someterán a examen según uno de los otros métodos de diagnóstico establecidos en el citado Manual (inmunocitoquímica, inmunotransferencia, demostración de las fibrillas características mediante microscopía electrónica o una combinación de tests rápidos) y que han sido definidos en el apartado C de este manual. La muestra debe remitirse al Laboratorio Nacional de Referencia de EETs.

## **C. PRUEBAS A REALIZAR EN LA ESPECIE BOVINA.**

### **C.1. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO.**

Las autorizadas para la especie bovina en el punto 4 del Capítulo C del Anexo X del Reglamento 999/2001.

### **C.2. PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN.**

Se someterán a métodos y protocolos de confirmación, todos los animales de los grupos A1 y A2 de vigilancia activa cuyo resultado a pruebas rápidas haya sido dudoso o positivo, así como todos los animales sospechosos por sintomatología definidos en el apartado B.

Los métodos de confirmación que se realizarán han sido descritos en la última edición del Manual de la OIE y en el reglamento de la Unión Europea 162/2009: método inmunohistoquímico, inmunotransferencia SAF o una alternativa autorizada por la OIE; observación de las fibrillas características por microscopía electrónica, examen histopatológico o combinación de pruebas de diagnóstico rápido.

Cuando el resultado del examen histopatológico sea dudoso o negativo, o cuando el material se haya autolisado, los tejidos se someterán a examen según uno de los métodos de diagnóstico establecidos en el citado Manual.

Las muestras para confirmación se remitirán al LNR para las EETs (LCV de Algete). Si el resultado es negativo, el animal será considerado negativo.

En el LNR de Algete se realizarán simultáneamente las pruebas de confirmación necesarias entre las que pueden encontrarse: Histopatología, Inmunohistoquímica, Inmunotransferencia SAF o una alternativa autorizada por la OIE o combinación de test rápidos.

Cuando el resultado de uno de dichos análisis en el LNR sea positivo, se considerará a los animales examinados como positivos a EEB.

### **Confirmación de casos sospechosos por combinación de test rápidos.**

Los test rápidos de diagnóstico podrán emplearse para un cribado en supuestos casos sospechosos, en caso de ser el resultado positivo o dudoso, y para su subsiguiente confirmación, se seguirán las siguientes pautas dictadas por el Laboratorio de Referencia Comunitario (CRL):

- La confirmación se realizará en el Laboratorio Nacional de Referencia para las EETs.
- El segundo test rápido usado debe incluir un tejido de bovino positivo y negativo como control.
- El segundo test rápido usado debe ser diferente (dos resultados por el mismo test, son insuficientes para la confirmación del caso).

- Si el primer test usado ha sido un basado en inmunotransferencia, el resultado debe ser documentado y presentado al LCV.
- Uno de los dos test rápidos realizados debe estar basado en inmunotransferencia.
- Cuando los resultados de los test rápidos no sean concordantes, la muestra debe ser sometida a uno de los métodos de confirmación anteriormente descritos. En caso de realizarse un examen histopatológico y el resultado ser negativo o no concluyente o cuando el material se haya autolisado, los tejidos serán analizados por alguno de los otros métodos de confirmación.

Todo animal será considerado como caso positivo a EEB si el resultado de los test rápidos ha sido positivos o no concluyentes, y al menos uno de los métodos confirmatorios es positivo.

## **2.- VIGILANCIA EN GANADO OVINO (Tembladera).**

### **A.- VIGILANCIA ACTIVA**

Se realizará un seguimiento de las subpoblaciones de animales que se describen a continuación mediante la realización de pruebas de diagnóstico rápido en los laboratorios autorizados por las CCAA en una muestra de animales que se determinará para cada CCAA en virtud de los requisitos establecidos en los Programas anuales de Vigilancia y Control de EET.

#### **A.1. Animales sacrificados para consumo humano, mayores de 18 meses o en cuya encía hayan hecho erupción 2 incisivos definitivos.**

A.2. Animales no sacrificados para consumo humano, mayores 18 meses o en cuya encía hayan hecho erupción 2 incisivos definitivos:

- a) Animales muertos en explotación.
- b) Animales que hayan sido sacrificados, pero no para consumo humano ni en el marco de una campaña de erradicación de enfermedades de las establecidas en el Real Decreto 2611/1996.

- c) Animales ovinos/caprinos de sacrificio de erradicación pertenecientes a la población de riesgo (descendientes y cohorte de edad).

La muestra será representativa para cada región y temporada. La selección de la muestra estará destinada a evitar una representación excesiva de cualquier grupo por lo que se refiere al origen, la especie, la edad, la raza, el tipo de producción o cualquier otra característica. La edad del animal se estimará en función de la dentadura, signos evidentes de madurez u otra información fiable. Se evitará, siempre que sea posible, realizar un muestreo múltiple en el mismo rebaño.

NOTA: Todo animal que, habiendo mostrado síntomas compatibles con la EET, muera o se sacrifique en la explotación, o sea detectado en matadero será clasificado dentro de la subpoblación de animal sospechoso, y por lo tanto, se tratará como se describe en el apartado B a continuación.

En caso de que el resultado de las pruebas rápidas realizadas fuera **positivo o dudoso**, se remitirá muestra para análisis mediante **pruebas de confirmación** en los laboratorios autorizados de las CCAA para realizar dichas pruebas o, en su defecto, en el Laboratorio Nacional de Referencia para las EETs (LCV Algete).

## **B.- VIGILANCIA PASIVA**

### **B.- VIGILANCIA PASIVA.**

La **vigilancia pasiva** de la enfermedad consiste, básicamente, en la detección de animales positivos mediante la comunicación por parte de veterinarios o ganaderos/responsables de los animales o de la aparición de animales con sintomatología clínica compatible con EETs.

Todos los animales sospechosos por sintomatología (todo animal vivo, sacrificado o muerto que presente o haya presentado anomalías neurológicas o de comportamiento o trastorno del SNC, con respecto a los cuales no se pueda establecer otro diagnóstico a tenor de un examen clínico, de la respuesta a un tratamiento, de un examen *post mortem* o tras un análisis de laboratorio *ante* o *post mortem*) se someterán a control mediante pruebas de confirmación en los laboratorios autorizados de las CCAA para realizar dichas pruebas o, en su defecto, en el Laboratorio Nacional de Referencia para las EETs (LCV Algete).

Para conocer con más detalle cómo detectar a los ovinos y caprinos que manifiestan un comportamiento o signos clínicos compatibles con encefalopatía espongiforme transmisible se recomienda visitar la página de internet del laboratorio comunitario de referencia:

<http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-tse-rl-trainref.htm>.

La sintomatología es a menudo poco perceptible y quienes mejor pueden identificarla son las personas que se ocupan de los animales a diario. Conviene advertir que hay casos de animales que manifiestan sólo algunos de estos signos, los cuales pueden también variar en intensidad. El porcentaje de casos sospechosos variará según las situaciones epidemiológicas y, por tanto, no se puede predecir de manera fiable.

No obstante, esta subpoblación demuestra tener una prevalencia elevada. La identificación, declaración y clasificación precisa de estos animales dependerá del programa permanente de concienciación de los ganaderos y veterinarios.

Este programa y la calidad de los sistemas de investigación y análisis en laboratorio que empleen los *Servicios Veterinarios* son esenciales para la credibilidad del sistema de vigilancia.

## **C. PRUEBAS A REALIZAR EN LAS ESPECIES OVINA Y CAPRINA**

### **C.1. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO**

Las autorizadas para las especies ovina y caprina en el punto 4 del Capítulo C del Anexo X del Reglamento 999/2001.

### **C.2. PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN**

Las muestras procedentes de Vigilancia Pasiva (sospechas clínicas) se someterán a control mediante métodos de confirmación descritos en la última edición del Manual OIE y en el reglamento de la Unión Europea 162/2009: método inmunohistoquímico, inmunotransferencia SAF o una alternativa autorizada por la OIE, observación de las fibrillas características por microscopía electrónica o 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.

En el caso de las muestras procedentes de la Vigilancia activa, cuando el resultado de la prueba rápida utilizada para el análisis de las muestras fuera positivo o dudoso, se remitirá muestra para análisis mediante pruebas de confirmación en los laboratorios autorizados de las CCAA para realizar dichas pruebas o, en su defecto, en el Laboratorio Nacional de Referencia para las EETs (LCV Algete).

En estas circunstancias, la muestra se someterá a examen mediante uno de los métodos de confirmación descritos en la última edición del Manual OIE y en el reglamento de la Unión Europea 162/2009: método inmunohistoquímico, inmunotransferencia SAF o una alternativa autorizada por la OIE, observación de las fibrillas características por microscopía electrónica, examen histopatológico.

Si con tal fin, se usa un examen histopatológico que resulta dudoso o negativo, los tejidos serán sometidos a otro examen ulterior por otro de los métodos y protocolos de confirmación.

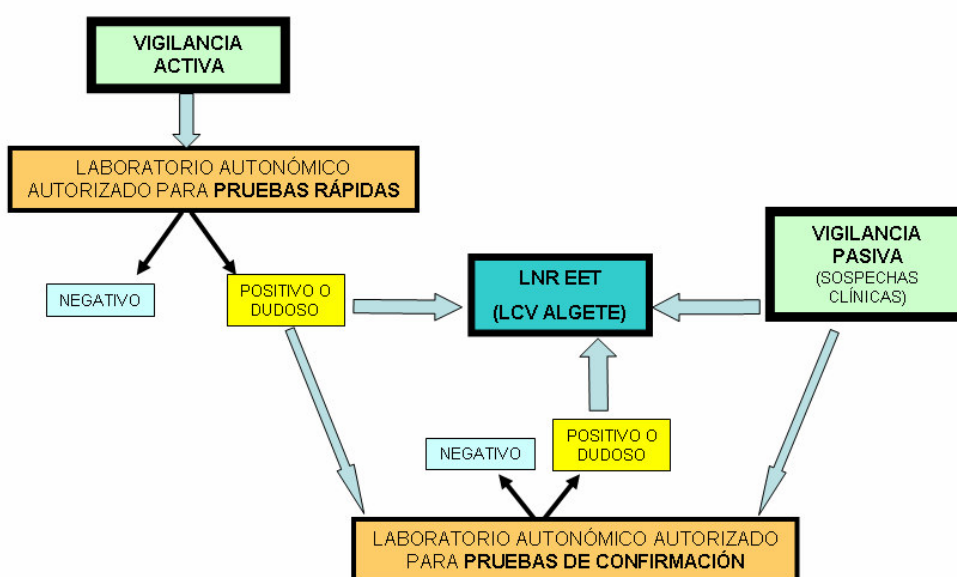
En el LNR se realizarán simultáneamente las nuevas pruebas de confirmación necesarias.

Para los casos de muestras que necesitan confirmación y que proceden tanto de vigilancia activa como vigilancia pasiva, si el resultado de la prueba de confirmación es negativo (a excepción del análisis histopatológico), el animal será considerado negativo. En el supuesto de que un resultado de uno de los exámenes de confirmación mencionados sea positivo, los animales se considerarán casos positivos de EET y se procederá a la realización de las pruebas discriminatorias autorizadas por la Unión Europea en el Reglamento 999/2001.

Si una CCAA dispusiera de laboratorio autorizado para realizar pruebas de confirmación y se obtuviera un resultado dudoso o positivo a las mismas, la muestra se remitirá al LNR para las EETs (LCV Algete).

En el Cuadro 1, se presenta el esquema del flujo de muestras hasta el LNR EET.

CUADRO 1- ESQUEMA DE ENVIO MUESTRAS AL LNR EET (Algete)



### C.3. PRUEBAS ADICIONALES PARA CASOS POSITIVOS A SCRAPIE

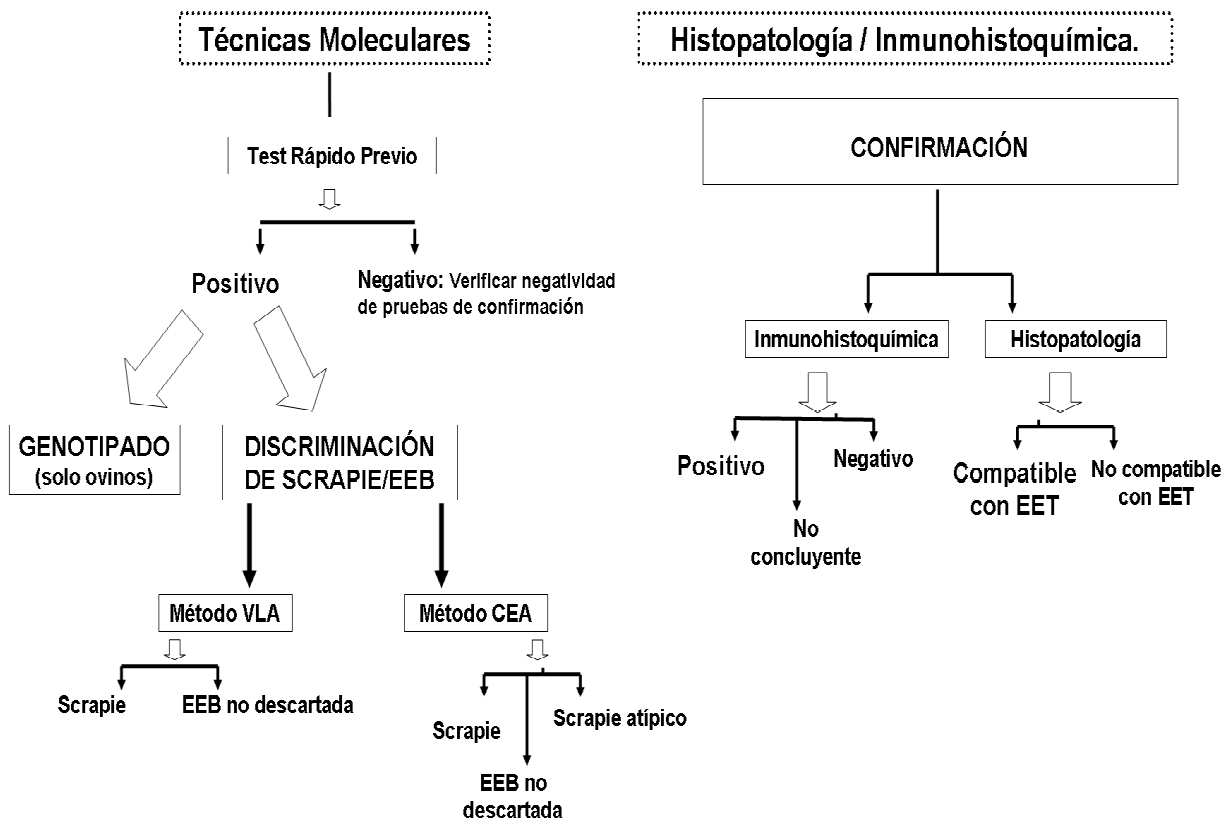
Para todos los casos positivos de scrapie, el LNR de Algete realizará sistemáticamente una **prueba de discriminación de EEB/Scrapie** mediante uno de estos métodos: método VLA o método CEA.

La elección de uno de los dos métodos dependerá del criterio del LNR y del resultado un test rápido previo. Cuando el resultado de dichos análisis en el LNR para las EETs (LCV Algete) no permita descartar la existencia de EEB se deberá remitir muestra para la realización del ensayo interlaboratorial según el punto 3.c.ii del anexo X del Reglamento 999/2001.

Además, para todos los casos positivos de scrapie en la especie ovina, en el LNR de Algete **se determinará el genotipo del gen Prp**.

### Cuadro 3. Análisis realizados en el LNR de EET de Algete

Especies: Ovino / Caprino



## II. TOMA DE MUESTRAS II.

La toma de muestras se realizará por personal formado específicamente para ello. Las muestras se remitirán al laboratorio a la mayor brevedad, a ser posible dentro de las 48 horas posteriores a la toma de muestras, y mediante un sistema que garantice la llegada de la muestra en adecuadas condiciones de conservación. Las muestras deben remitirse en envases individuales herméticos e irrompibles, perfectamente identificados y acompañadas de la hoja/s de toma de muestras correspondientes debidamente cumplimentadas.

### II. A - TOMA DE MUESTRAS EN BOVINO

#### 1. VIGILANCIA PASIVA

La toma de muestras consistirá en la extracción del encéfalo completo y de no ser posible, siempre el tronco encefálico completo vía foramen magnum, de acuerdo con el esquema de la Figura 1

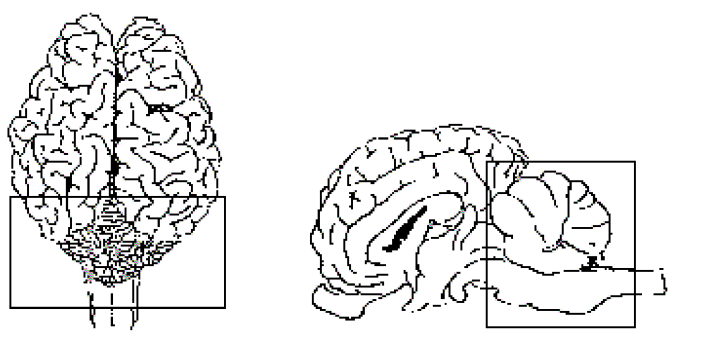


Fig. 1

Una vez realizada la extracción del tronco del encéfalo, debe realizarse una sección longitudinal del mismo siguiendo la línea media, según el esquema de la Figura 4 a, obteniendo 2 secciones simétricas:

- Sección B1 para inmersión en **formol** tamponado al 10%.
- Sección B2 para mantener en **fresco** (4º C)

#### REMISIÓN DE MUESTRAS DE BOVINO.

- **Sección B1:** Muestra en formol al 10% para la confirmación mediante técnicas histopatológicas

- **Sección B2:** Muestra en fresco (4º C) para la realización de la técnica de confirmación por western blot OIE.

## 2. VIGILANCIA ACTIVA

La **TOMA DE MUESTRAS** consistirá en:

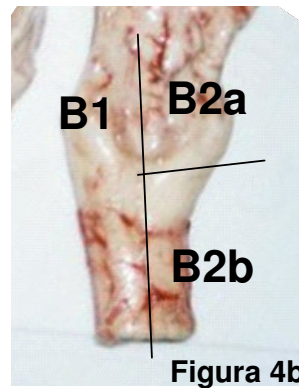
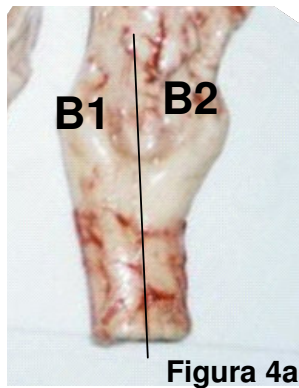
- 1- Extracción del tronco encefálico vía *foramen magnum*.
- 2- Realizar una sección longitudinal del mismo siguiendo la línea media, según el esquema de la Figura 4a, obteniendo 2 secciones simétricas:
  - Sección B1 para inmersión en formol tamponado al 10%.
  - Sección B2 para mantener en fresco (4º C)
- 3- Dividir la sección B2 de la figura 4a, transversalmente (a través del obex) en 2 porciones siguiendo el esquema de la Figura 4b, obteniendo así las secciones: B2a y B2b.

### REMISIÓN DE MUESTRAS:

- **Sección B1:** Muestra en formol para la confirmación mediante técnicas histopatológicas
- **Sección B2:** Muestra en fresco (4º C)
- **B2a** (Figura 4b): Muestra en fresco para el diagnóstico mediante los tests rápidos en el laboratorio autorizado de cada Comunidad Autónoma.
- **B2b** (Figura 4b): Muestra en fresco para la confirmación mediante western blot OIE (bovino).

NOTA 1: De acuerdo con las indicaciones del Laboratorio de Referencia de la UE, la cantidad mínima requerida para la confirmación por técnicas de la OIE, será de **6 gramos**.

NOTA 2: En todos los casos en que se remita muestra la LNR para diagnóstico de EET debe remitirse muestra en formol y en fresco.



## DOCUMENTACIÓN DE ACOMPAÑAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Las muestras irán acompañadas, como mínimo, de la documentación que a continuación se señala. Cuando la muestra sea enviada de un laboratorio a otro, para confirmación de resultados, se adjuntará también copia completa de la documentación de la misma:

- **Todas las muestras** irán acompañadas por la documentación establecida como **Modelo 1**.
- Además, para los **animales sospechosos** se adjuntará la encuesta según el **Modelo 3**, que recoge los síntomas detectados.
- Cuando las **muestras sean enviadas desde un laboratorio autorizado de la CCAA al LNR** Laboratorio Nacional de Referencia, se adjuntará la documentación establecida como **Modelo 4**.

## II. B - TOMA DE MUESTRAS EN OVINO Y CAPRINO

### 1.-VIGILANCIA PASIVA

La toma de muestras consistirá en la extracción del encéfalo completo incluido el tronco encefálico y si no fuera posible, siempre se debe obtener el tronco encefálico completo, incluyendo el cerebelo.

Posteriormente se realizará un corte caudal al obex, siguiendo el esquema de la Figura 2, obteniendo 2 secciones:

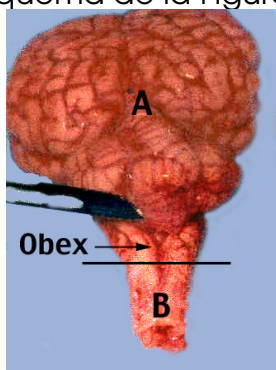


Fig 2

- Sección A: encéfalo y tronco encefálico rostral

3. En todos los casos, una vez realizada la extracción del tronco del encéfalo, debe realizarse una sección longitudinal del mismo siguiendo la línea media, según el esquema de la Figura 3a, obteniendo 2 secciones simétricas:

- Sección B1 para inmersión en formol tamponado al 10%.
- Sección B2 para mantener en fresco (4º C)

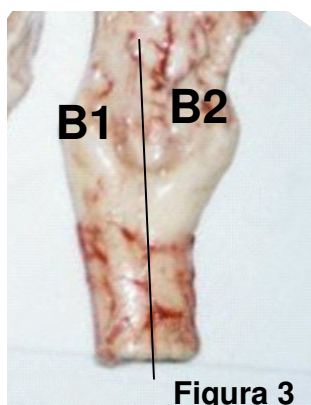


Figura 3

5. Remisión de muestras para ovino / caprino.

- **Sección A:** Muestra en fresco (4º C) para posteriores análisis de la muestra en el Laboratorio Nacional de Referencia para el diagnóstico de EETs.
- **Sección B1:** Muestra en formol al 10% para la confirmación mediante técnicas histopatológicas
- **Sección B2:** Muestra en fresco (4º C) para la realización de las pruebas discriminatorias en positivos en pequeños rumiantes.
- **Cerebelo:** Además de las muestras requeridas, se enviará cerebelo como muestra en fresco (no fijada en formol), en los casos donde esté disponible con el fin de descartar la presencia de cepas atípicas de Scrapie.

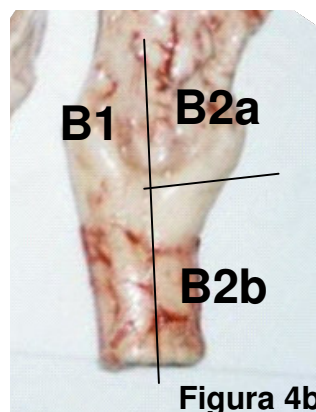
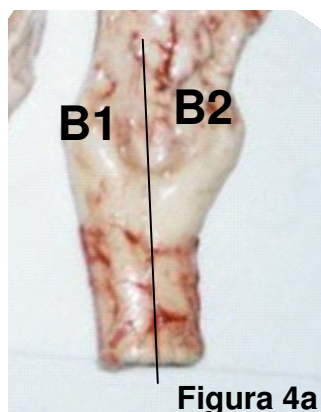
NOTA 1: De acuerdo con las indicaciones del Laboratorio de Referencia de la UE, la cantidad mínima requerida para la confirmación por técnicas de la OIE, será, en **gramos, la máxima posible**. En el caso de ovinos donde la cantidad de muestra tomada es menor, la cantidad debe aproximarse lo más posible a la requerida

NOTA 2: En todos los casos en que se remita muestra la LNR para diagnóstico de EET debe remitirse muestra en formol y en fresco.

## 2.-VIGILANCIA ACTIVA

La toma de muestras consistirá, para todas las especies, en:

- 1- Extracción del tronco encefálico incluyendo el cerebelo en pequeños rumiantes , vía *foramen magnum*.
- 2- Realizar una sección longitudinal del mismo siguiendo la línea media, según el esquema de la Figura 4a, obteniendo 2 secciones simétricas:
  - Sección B1 para inmersión en formol tamponado al 10%.
  - Sección B2 para mantener en fresco (4º C)
- 3- Dividir la sección B2 de la figura 4a, transversalmente (a través del obex) en 2 porciones siguiendo el esquema de la Figura 4b, obteniendo así las secciones: B2a y B2b.



4. Remisión de muestras:

- **Sección B1:** Muestra en formol para la confirmación mediante técnicas histopatológicas
- **Sección B2:** Muestra en fresco (4º C)
- **B2a** (Figura 4b): Muestra en fresco para el diagnóstico mediante los tests rápidos en el laboratorio autorizado de cada Comunidad Autónoma.
- **B2b** (Figura 4b): Muestra en fresco para la confirmación para discriminación scrapie/EEB (pequeños rumiantes).
- **Cerebelo:** Además de las muestras requeridas, se enviará cerebelo como muestra en fresco (no fijada en formol), en los casos donde

esté disponible con el fin de descartar la presencia de cepas atípicas de Scrapie.

NOTA 1: De acuerdo con las indicaciones del Laboratorio de Referencia de la UE, la cantidad mínima requerida para la confirmación por técnicas de la OIE, será de **6 gramos**. En el caso de ovinos donde la cantidad de muestra tomada es menor, la cantidad debe aproximarse lo más posible a la requerida

NOTA 2: En todos los casos en que se remita muestra la LNR para diagnóstico de EET debe remitirse muestra en formol y en fresco.

Modelo 1:

**HOJA DE TOMA DE MUESTRAS: PROGRAMA DE VIGILANCIA DE LA EEB**

FECHA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:

**DEFINICIÓN DE LA SUBPOBLACIÓN**

Animal sospechoso (CUMPLIMENTAR SIEMPRE EL MODELO 3)

Muerto:  en explotación  en transporte  en matadero  
Sacrificado:  en explotación  en transporte  en matadero

**A.1. Animal sacrificado para consumo humano**

Sacrificado de urgencia > 36 meses  
 Sacrificado > 36 meses con alteraciones en la inspección ante-mortem  
 Sacrificado normal > 48 meses (indicar campaña de erradicación sin síntomas, si procede)  
 Animal de lidia lidiado o corrido > 48 meses

**A.2. Animales > 36 meses cuyo sacrificio no esté destinado a consumo humano**

Muerto:  en explotación  en transporte  en matadero  
Sacrificado:  en explotación  en transporte  erradicación  
Especificar cuando proceda:  raza de lidia  Campaña de saneamiento

Animal sacrificado como medida de erradicación de foco EEB

Descendiente de animal positivo  
 Grupo de edad de animal positivo ( $\pm$  12 meses)  
 Otros

Otra subpoblación (Especificar motivo de la toma de muestra)

**LUGAR DE TOMA DE MUESTRAS**

matadero  industria de transformación  desolladero o local de faenado  explotación  planta intermedia  
 sala de tratamiento de carne de reses de lidia  incineradora

ESTABLECIMIENTO/ EXPLOTACIÓN: \_\_\_\_\_

Nº REGISTRO: \_\_\_\_\_

COMUNIDAD AUTÓNOMA: \_\_\_\_\_

PROVINCIA: \_\_\_\_\_

MUNICIPIO: \_\_\_\_\_

**DATOS DEL ANIMAL**

FECHA DE SACRIFICIO O MUERTE: \_\_\_\_\_ Nº IDENTIFICACIÓN: \_\_\_\_\_ APTITUD: \_\_\_\_\_

FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_ RAZA: \_\_\_\_\_

**DATOS DE LA EXPLOTACIÓN:**

PROPIETARIO DE LA EXPLOTACIÓN: \_\_\_\_\_ NIF: \_\_\_\_\_

Nº REGISTRO DE LA EXPLOTACIÓN: \_\_\_\_\_ DOMICILIO: \_\_\_\_\_

PROVINCIA DE LA EXPLOTACIÓN: \_\_\_\_\_ MUNICIPIO: \_\_\_\_\_

**CUADRO CLÍNICO**

ANIMAL OBJETO DE SACRIFICIO DE URGENCIA:

➤ Especificar las causas del sacrificio de urgencia o adjuntar el certificado veterinario \_\_\_\_\_

ANIMAL CON SINTOMATOLOGÍA EN LA INSPECCIÓN ANTE-MORTEM:

➤ Especificar los síntomas clínicos detectados: \_\_\_\_\_

Veterinario responsable de la toma de muestras:

\_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

## Modelo 2:

HOJA DE TOMA DE MUESTRAS: PROGRAMA DE VIGILANCIA DE EET EN GANADO OVINO Y CAPRINO

FECHA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: (Preferentemente nº crotal)

### DEFINICION DE LA SUBPOBLACION

#### Animal sospechoso (CUMPLIMENTAR SIEMPRE MODELO 3)

Muerto:	∇ en matadero	∇ en transporte	∇ en explotación
Sacrificado:	∇ en matadero	∇ en transporte	∇ en explotación

#### Animal > 18 meses (

*destinado a consumo humano ( especificar animales de erradicación de campaña de saneamiento ganadero, si procede)*

No destinado a consumo: muerto: \_\_\_\_\_ ∇ en explotación \_\_\_\_\_ ∇ en transporte \_\_\_\_\_ ∇ en matadero \_\_\_\_\_

Sacrificado no para consumo: \_\_\_\_\_ ∇ en explotación \_\_\_\_\_ ∇ en transporte \_\_\_\_\_  
Erradicación de foco de tembaldera.

#### Otra subpoblación (Especificar motivo de la toma de muestra)

### LUGAR DE TOMA DE MUESTRAS

matadero      industria de transformación      planta intermedio      explotación      incineradora

Establecimiento/explotación: \_\_\_\_\_ nº de registro: \_\_\_\_\_

Comunidad Autónoma: \_\_\_\_\_ provincia: \_\_\_\_\_ municipio: \_\_\_\_\_

### DATOS DEL ANIMAL

fecha de sacrificio o muerte: \_\_\_\_\_ nº identificación: \_\_\_\_\_

fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ sexo: \_\_\_\_ raza: \_\_\_\_\_ especie \_\_\_\_\_

### DATOS DE LA EXPLOTACIÓN

nombre y NIF del propietario de la explotación: \_\_\_\_\_

domicilio: \_\_\_\_\_

nº de registro de la explotación: \_\_\_\_\_

Comunidad Autónoma de la explotación: \_\_\_\_\_

provincia de la explotación: \_\_\_\_\_ municipio: \_\_\_\_\_

### OBSERVACIONES

\_\_\_\_\_

Nombre, firma del Veterinario responsable de la toma de muestras: \_\_\_\_\_

Teléfono de contacto

Modelo 3

**ENCUESTA DEL CUADRO CLÍNICO DE ANIMALES SOSPECHOSOS**

FECHA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: (Preferentemente nº crotal)

1. Fecha de aparición de los primeros síntomas: \_\_\_\_\_

2. Detalle de la sintomatología:

Cambios de comportamiento

- Nerviosismo
- Agresividad
- Aprehensión o miedo
- Hiperestesia o reacción exagerada a estímulos externos
- Movimientos anormales de la cabeza
- Otros

Cambios locomotores o de postura

- Ataxia o Incoordinación
- Posturas anormales
- Hipermetría: elevación excesiva de extremidades al andar
- Caídas y dificultad para levantarse
- Otros

Prurito

Lesiones cutáneas

Temblores

Otros síntomas neurológicos

- Tetania o contracciones musculares
- Movimientos en círculos
- Empuja objetos fijos con la cabeza
- Patadas en sala de ordeño. Dificultad para entrar en sala
- Otros:

3. Descripción y tiempo del tratamiento suministrado:

- Tratamiento 1:
  - Sustancia y nombre comercial: \_\_\_\_\_
  - Periodo de aplicación: \_\_\_\_\_
- Tratamiento 2:
  - Sustancia y nombre comercial: \_\_\_\_\_
  - Periodo de aplicación : \_\_\_\_\_

4. Otras enfermedades de tipo nervioso de las que se sospecha/diagnostico diferencial (indicar si han sido descartadas y método empleado)

\_\_\_\_\_

5. Observaciones: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre, firma del Veterinario responsable de la toma de muestras: \_\_\_\_\_  
Teléfono de contacto

Modelo 4

**HOJA DE REMISIÓN DE MUESTRAS Y RESULTADOS AL LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA PARA EL DIAGNOSTICO DE EETS.**

FECHA: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: (número crotal)

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: (número de id. del Laboratorio remitente)

**DATOS DEL LABORATORIO REMITENTE**

Centro: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Persona remitente de la muestra: \_\_\_\_\_

**DATOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS**

Fecha de análisis: _____		
Técnicas empleadas:	Resultado obtenido:	Anticuerpos utilizados (Solo Inmunohistoquímica)
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

**DATOS DE LA MUESTRA**

Estado de la muestra remitida:

- Fresca con región anatómica identificable
- Fresca sin región anatómica identificable
- Autolítica
- Avanzado Estado de descomposición:

Cantidad remitida: \_\_\_\_\_

**OBSERVACIONES**

**ANEXO IV**  
**LISTA DE ESTADOS MIEMBROS QUE FIGURAN EN EL ANEXO DE LA**  
**DECISIÓN DE LA COMISIÓN 2010/66/CE DE 5 DE FEBRERO DE 2010, POR**  
**LA QUE SE AUTORIZA A DETERMINADOS ESTADOS MIEMBROS A**  
**REVISAR SU PROGRAMA ANUAL DE SEGUIMIENTO DE LA EEB**

- Bélgica
- Dinamarca
- Alemania
- Irlanda
- Grecia
- España
- Francia
- Italia
- Chipre
- Luxemburgo
- Países Bajos
- Austria
- Portugal
- Eslovenia
- Finlandia
- Suecia
- Reino Unido