Este texto es exclusivamente un instrumento de documentación y no surte efecto jurídico. Las instituciones de la UE no asumen responsabilidad alguna por su contenido. Las versiones auténticas de los actos pertinentes, incluidos sus preámbulos, son las publicadas en el Diario Oficial de la Unión Europea, que pueden consultarse a través de EUR-Lex. Los textos oficiales son accesibles directamente mediante los enlaces integrados en este documento

►**B**

DIRECTIVA 92/66/CEE DEL CONSEJO

de 14 de julio de 1992

por la que se establecen medidas comunitarias para la lucha contra la enfermedad de Newcastle

(DO L 260 de 5.9.1992, p. 1)

Modificada por:

		Diario Oficial		
		nº	página	fecha
►**M1**	Reglamento (CE) nº 806/2003 del Consejo de 14 de abril de 2003	L 122	1	16.5.2003
►**M2**	Directiva 2006/104/CE del Consejo de 20 de noviembre de 2006	L 363	352	20.12.2006
►**M3**	Directiva 2008/73/CE del Consejo de 15 de julio de 2008	L 219	40	14.8.2008
►**M4**	Directiva (UE) 2018/597 del Parlamento Europeo y del Consejo de 18 de abril de 2018	L 103	4	23.4.2018

Modificada por:

►**A1**	Acta relativa a las condiciones de adhesión del Reino de Noruega, de la República de Austria, de la República de Finlandia y del Reino de Suecia y a las adaptaciones de los Tratados en los que se basa la Unión Europea (94/C 241/08)	C 241	21	29.8.1994
	(adaptada por Decisión 95/1/CE, Euratom, CECA del Consejo)	L 1	1	1.1.1995
►**A2**	Acta relativa a las condiciones de adhesión de la República Checa, la República de Estonia, la República de Chipre, la República de Letonia, la República de Lituania, la República de Hungría, la República de Malta, la República de Polonia, la República de Eslovenia y la República Eslovaca, y a las adaptaciones de los Tratados en los que se fundamenta la Unión	L 236	33	23.9.2003

▼B

DIRECTIVA 92/66/CEE DEL CONSEJO

de 14 de julio de 1992

por la que se establecen medidas comunitarias para la lucha contra la enfermedad de Newcastle

Artículo 1

Sin perjuicio de las disposiciones comunitarias que regulan el comercio intracomunitario, la presente Directiva define las medidas comunitarias aplicables en caso de aparición de la enfermedad de Newcastle:

a) en las explotaciones de aves de corral;

b) en lo que se refiere a las palomas mensajeras, así como a las demás aves que están en cautividad.

La presente Directiva no se aplicará en caso de que se detecte la enfermedad de Newcastle en otras aves silvestres que viven en libertad. Sin embargo, en ese caso el Estado miembro afectado comunicará a la Comisión las medidas que haya adoptado.

Artículo 2

A efectos de la presente Directiva, se aplicarán, en su caso, las definiciones del artículo 2 de la Directiva 90/539/CEE del Consejo, de 15 de octubre de 1990, relativa a las condiciones de policía sanitaria que regulan los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros ([1]).

Además, se entenderá por:

a) «ave de corral infectada»:

   — toda ave de corral en la que un examen efectuado por un laboratorio autorizado haya confirmado oficialmente la presencia de la enfermedad de Newcastle, o

   — tratándose de un segundo brote o de brotes subsiguientes, toda ave de corral en la que se hayan observado síntomas clínicos o lesiones *post mortem* propios de la enfermedad de Newcastle;

b) «ave de corral sospechosa de estar infectada»: toda ave de corral con síntomas clínicos o lesiones *post mortem* tales que se pueda sospechar legítimamente la presencia de la enfermedad de Newcastle;

c) «ave de corral sospechosa de estar contaminada»: toda ave de corral que haya podido estar, directa o indirectamente, en contacto con el virus de la enfermedad de Newcastle;

d) «aguas grasas»: los desperdicios procedentes de cocinas, restaurantes o, en su caso, industrias cárnicas;

e) «autoridad competente»: la autoridad competente con arreglo al punto 6 del artículo 2 de la Directiva 90/425/CEE ([2]);

f) «veterinario oficial»: el veterinario designado por la autoridad competente;

([1]) DO nº L 303 de 31.10.1990, p. 6. Directiva modificada en último lugar por la Directiva 91/496/CEE (DO nº L 268 de 24.9.1991, p. 56).

([2]) Directiva 90/425/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1990, relativa a los controles veterinarios y zootécnicos aplicables en los intercambios intracomunitarios de determinados animales vivos y productos con vistas a la realización del mercado interior (DO nº L 224 de 18.8.1990, p. 29). Directiva modificada en último lugar por la Directiva 91/496/CEE (DO nº L 268 de 24.9.1991, p. 56).

▼B

g) «paloma mensajera»: toda paloma que se transporte o esté destinada a su transporte del palomar para ser liberada de forma que pueda volver volando a su palomar o a cualquier otro destino;

h) «palomar»: toda instalación utilizada para la guarda o cría de palomas mensajeras.

Artículo 3

Los Estados miembros velarán por que se notifique obligatoria e inmediatamente toda sospecha de enfermedad de Newcastle a la autoridad competente.

Artículo 4

1. Cuando en una explotación haya aves de corral sospechosas de estar infectadas o contaminadas por la enfermedad de Newcastle, los Estados miembros velarán por que el veterinario oficial realice inmediatamente una investigación oficial para confirmar o descartar la presencia de esta enfermedad; en particular, efectuará o hará que se efectúen las tomas de muestras adecuadas para los exámenes de laboratorio.

2. En cuante se le notifique la sospecha de infección o contaminación, la autoridad competente pondrá la explotación bajo vigilancia oficial y ordenará, en particular:

a) que se realice un censo de todas las aves de corral de la explotación en el que se precise, por categorías, el número de aves de corral muertas cuántas presentan síntomas clínicos y cuántas no. Se deberá actualizar el censo para tener en cuenta las aves nacidas y muertas durante el período de sospecha; los datos de este censo deberán actualizarse y presentarse cuando se solicite, y podrán controlarse en cada visita;

b) que se recluyan todas las aves de corral de la explotación dentro de sus locales habituales o de cualquier otro lugar en el que queden aisladas, sin ningún contacto con otras aves;

c) que se prohíba tanto la entrada de aves de corral en la explotación como la salida de las que se encuentren en ésta;

d) que se subordine a la autorización de la autoridad competente:

— todo movimiento de personas, animales o vehículos cuyo destino u origen sea la explotación,

— todo movimiento de carne o cadáveres de aves de corral, piensos, material, residuos, deyecciones, yacijas, estiércol o cualquier otro elemento capaz de transmitir la enfermedad de Newcastle;

e) que se prohíba la salida de la explotación de huevos, salvo los huevos enviados directamente a un establecimiento autorizado para la fabricación y/o el tratamiento de ovoproductos con arreglo a lo dispuesto en el punto 1 del artículo 6 de la Directiva 89/437/CEE ([1]) y que sean transportados de conformidad con una autorización expedida por la autoridad competente. Esta autorización deberá cumplir los requisitos establecidos en el Anexo I;

([1]) Directiva 89/437/CEE del Consejo, de 20 de junio de 1989, sobre los problemas de orden higiénico y sanitario relativos a la producción y a la puesta en el mercado de los ovoproductos (DO nº L 212 de 22.7.1989, p. 87). Directiva modificada por la Directiva 89/662/CEE (DO nº L 395 de 30.12.1989, p. 13).

▼B

f) que se apliquen los medios de desinfección apropiados en las entradas y salidas de la explotación y de los edificios en que se hallen las aves de corral;

g) que se realice una investigación epidemiológica con arreglo a lo dispuesto en el artículo 7.

3. Hasta que entren en vigor las medidas oficiales contempladas en el apartado 2, el propietario o avicultor de toda explotación en la que se sospeche la presencia de la enfermedad adoptará todas las medidas razonables que garanticen el cumplimiento de las disposiciones contempladas en dicho apartado, con exclusión de la letra g).

4. La autoridad competente podrá hacer extensivas las medidas previstas en el apartado 2 a otras explotaciones cuando su ubicación, configuración o los contactos con la explotación en que se sospeche la existencia de la enfermedad permitan sospechar una posible contaminación.

5. Las medidas contempladas en los apartados 1 y 2 dejarán de aplicarse únicamente cuando el veterinario oficial descarte cualquier sospecha de enfermedad de Newcastle.

Artículo 5

1. En cuanto se confirme oficialmente que en una explotación se ha declarado la enfermedad de Newcastle, los Estados miembros velarán por que la autoridad competente, además de las medidas mencionadas en el apartado 2 del artículo 4, ordene:

a) el sacrificio *in situ* y sin demora de todas las aves de corral que se hallen en la explotación y la destrucción de las aves de corral muertas o sacrificadas y de todos los huevos. Estas operaciones se efectuarán de manera que se limite al máximo el riesgo de propagación de la enfermedad;

b) la destrucción o el tratamiento apropiado de todas las materias o residuos, como piensos, yacijas o estiércol, que puedan estar contaminados. Este tratamiento deberá realizarse ateniéndose a las instrucciones del veterinario oficial y deberá garantizar la destrucción total del virus de la enfermedad de Newcastle que se hubiere detectado;

c) en lo posible, la búsqueda y destrucción de la carne de las aves de corral procedentes de la explotación que hayan sido sacrificadas durante el supuesto período de incubación de la enfermedad;

d) la búsqueda y destrucción de los huevos para incubar puestos durante el supuesto período de incubación que hayan salido de la explotación, quedando entendido que se someterán a vigilancia oficial las aves de corral que hayan nacido de esos huevos; en lo posible, la búsqueda y destrucción de los huevos destinados al consumo puestos durante el supuesto período de incubación que hayan salido de la explotación, salvo en el caso de que hayan sido previamente desinfectados de forma correcta;

e) después de haberse llevado a cabo las operaciones indicadas en las letras a) y b), la limpieza y desinfección, con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11, de los edificios en que se alojen las aves de corral y de sus alrededores, de los vehículos de transporte y de todo material que pueda estar contaminado;

f) después de realizar las operaciones indicadas en la letra e), la interposición de un período mínimo de veintiún días antes de volver a introducir aves de corral en la explotación;

g) la realización de una investigación epidemiológica con arreglo, a lo dispuesto en el artículo 7.

▼B

2. La autoridad competente podrá aplicar las medidas previstas en el apartado 1 a otras explotaciones vecinas cuando su ubicación, su configuración o los contactos con la exlotación en la que se haya confirmado la enfermedad permitan sospechar una posible contaminación.

3. Cuando una cepa del virus de la enfermedad de Newcastle que tenga un ICPI (índice de patogenia intracerebral) superior a 0,7 e inferior a 1,2 se haya aislado en una manada de aves de corral que no presente ningún síntoma clínico de dicha enfermedad, y cuando el laboratorio comunitario de referencia a que se hace mención en el artículo 15 haya demostrado que dicho virus aislado procede de una vacuna viva atenuada de la enfermedad de Newcastle, la autoridad competente podrá conceder una exención a los requisitos de las letras a) a f) del apartado 1, siempre que la explotación de que se trate se someta a vigilancia oficial durante un período de 30 días, y deberá exigir, en particular;

— que se apliquen las disposiciones de las letras a), b), d), e) y f) del apartado 2 del artículo 4,

— que ningúna ave de corral salga de la explotación salvo para ser conducida directamente a un matadero designado por la autoridad competente.

La autoridad competente responsable de dicho matadero deberá tener conocimiento de la intención de enviarle aves de corral para el sacrificio y, desde el momento de su llegada al matadero, dichas aves de corral deberán recluirse y sacrificarse aparte de las demás aves de corral.

4. La carne fresca procedente de las aves de corral mencionadas en el apartado 3 del presente artículo deberá llevar la marca de inspección veterinaria prevista en el apartado 1 del artículo 5 de la Directiva 91/494/CEE.

5. Las disposiciones establecidas en el apartado 3 serán objeto de revisión a la vista de la evolución de la investigación científica, con miras a la adopción de normas armonizadas para la utilización de vacunas contra la enfermedad de Newcastle en la Comunidad.

Artículo 6

Cuando las explotaciones estén formadas por dos o más manadas independientes, la autoridad competente, basándose en los criterios establecidos por la Comisión con arreglo al procedimiento previsto en el artículo 25, podrá eximir de los requisitos del apartado 1 del artículo 5 a las manadas sanas de una explotación infectada, siempre que el veterinario oficial haya confirmado que las operaciones que se realicen en ella reúnen unas caraterísticas tales que las manadas están completamente separadas desde el punto de vista de su alojamiento, mantenimiento y alimentación, de modo que no hay peligro de que el virus se contagie de una manada a otra.

Artículo 7

1. La investigación epidemiológica estudiará los siguientes aspectos:

— duración del período de la posible presencia de la enfermedad de Newcastle en la explotación o el palomar,

— posible origen de la enfermedad de Newcastle en la explotación o el palomar y localización de las demás explotaciones o palomares en los que se encuentren aves de corral, palomas u otras aves que están en cautividad que hayan podido infectarse o contaminarse a partir del mismo foco,

▼B

— movimientos de personas, aves de corral, palomas, otras aves que están en cautividad u otros animales, vehículos, huevos, carne, cadáveres y cualquier utensilio o material que haya podido transmitir el virus de la enfermedad de Newcastle a las explotaciones o los palomares afectados o propagarlo a partir de los mismos.

2. A fin de coordinar todas las medidas necesarias para garantizar la erradicación de la enfermedad de Newcastle lo antes posible y con objeto de realizar la investigación epidemiológica, se creará un centro de crisis,

El Consejo, por mayoría cualificada y a propuesta de la Comisión, aprobará las disposiciones generales relativas a los centros de crisis nacionales y al centro de crisis comunitario.

Artículo 8

1. Cuando el veterinario oficial disponga de indicios para sospechar la contaminación de aves de corral de una explotación debida a movimientos de personas, animales o vehículos o cualquier otra circunstancia, la explotación afectada se someterá a control oficial con arreglo a lo dispuesto en el apartado 2.

2. El control oficial tendrá como finalidad detectar inmediatamente cualquier indicio de la enfermedad de Newcastle, llevar a cabo el censo de las aves de corral, controlar sus movimientos y, en su caso, aplicar las medidas previstas en el apartado 3.

3. Cuando una explotación esté sometida al control oficial de conformidad con lo dispuesto en los apartados 1 y 2, la autoridad competente prohibirá la salida de las aves de corral de la explotación cuando no sea para su transporte directo a un matadero bajo control oficial para su sacrificio inmediato. Antes de que pueda autorizarse tal salida, el veterinario oficial deberá haber efectuado un examen clínico de todas las aves de corral que demuestre que la explotación está libre de la enfermedad de Newcastle. Las restricciones de movimientos mencionadas en el presente artículo se aplicarán durante un período de veintiún días a partir de la última fecha en que pueda haberse producido la contaminación; no obstante, estas restricciones se aplicarán durante un período mínimo de siete días.

4. Cuando considere que las condiciones lo permiten, la autoridad competente podrá limitar la aplicación de las medidas establecidas en el presente artículo a una parte de la explotación y a las aves de corral que se hallen en ésta, siempre que hayan sido alojadas, mantenidas y alimentadas de forma totalmente separada y por diferente personal.

5. Cuando el veterinario oficial disponga de indicios para sospechar que las palomas mensajeras o cualquier palomar están contaminados por el virus de la enfermedad de Newcastle, tomará todas las medidas apropiadas con el fin de que dicho palomar se someta a medidas restrictivas que incluirán la prohibición de movimientos de las palomas mensajeras fuera del palomar durante veintiún días.

Artículo 9

1. Cuando el diagnóstico de la enfermedad de Newcastle se haya confirmado oficialmente en las aves de corral, los Estados miembros velarán por que la autoridad competente delimite, alrededor de la explotación infectada, una zona de protección de un radio mínimo de tres kilómetros, inscrita a su vez en una zona de vigilancia de un radio mínimo de diez kilómetros. Para la delimitación de estas zonas deberán tenerse en cuenta aquellos factores geográficos, administrativos, ecológicos y epizoóticos relacionados con la enfermedad de Newcastle, así como las estructuras de control.

▼B

2. En la zona de protección se aplicarán las siguientes medidas:

a) localización de todas las explotaciones de la zona con aves de corral;

b) visitas periódicas a todas las explotaciones con aves de corral, con exámenes clínicos de éstas y, en su caso, toma de muestras para su examen en laboratorio; deberá llevarse un registro de visitas y resultados de los exámenes;

c) mantenimiento de todas las aves de corral en su alojamiento habitual o en cualquier otro lugar que permita aislarlas;

d) utilización de sistemas de desinfección apropiados en las entradas y salidas de las explotaciones;

e) control de los desplazamientos dentro de la zona de las personas que manipulen aves de corral, sus cadáveres y huevos, así como de los vehículos utilizados para su transporte; en general, se prohibirá el transporte de las aves, exceptuando el tránsito por las carreteras y líneas férreas más importantes;

f) prohibición de sacar aves de corral y huevos para incubar de la explotación en que se encuentren, salvo que la autoridad competente haya autorizado el transporte:

   i) de aves de corral para su sacrificio inmediato, preferentemente a un matadero situado en la zona infectada, o, de no ser ello posible, a uno situado fuera de ésta y designado por la autoridad competente. La carne de dichas aves de corral deberá llevar la marca especial de inspección veterinaria establecida en el apartado 1 del artículo 5 de la Directiva 91/494/CEE ([1]),

   ii) de pollitos de un día de edad o de pollitas maduras para la puesta a una explotación situada dentro de la zona de vigilancia y que no tenga otras aves de corral. No obstante, de acuerdo con el procedimiento establecido en el artículo 25, se autorizará a los Estados miembros que no estén en condiciones de garantizar el transporte de pollitos de un día o de pollitas maduras para la puesta a una explotación situada dentro de la zona de vigilancia a que dispongan el transporte de dichos pollitos y pollitas a una explotación situada fuera de la zona de vigilancia. Las explotaciones a las que se hace referencia deberán estar sometidas al control oficial de conformidad con el apartado 2 del artículo 8,

   iii) de huevos para incubar en una incubadora designada por la autoridad competente; los huevos y sus envases deberán desinfectarse antes de ser enviados.

   Los desplazamientos indicados en los puntos i), ii) y iii) deberán ser realizados directamente hajo control oficial y únicamente se autorizarán después de que el veterinario oficial haya efectuado una inspección sanitaria de la explotación. Los medios de transporte empleados deberán limpiarse y desinfectarse antes y después de su utilización;

g) prohibición de retirar o esparcir sin autorización el estiércol de las aves de corral o sus yacijas;

([1]) Directiva 91/494/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1991, sobre las condiciones de policía sanitaria a las que deben ajustarse los intercambios intracomunitarios y las importaciones de carnes frescas de aves de corral procedentes de países terceros (DO nº L 268 de 24.9.1991, p. 35).

▼B

h) prohibición de celebrar ferias, mercados, exposiciones y demás concentraciones de aves de corral o de cualquier otro tipo de aves.

3. Las medidas aplicadas en la zona de protección se mantendrán al menos durante veintiún días después de que se hayan efectuado en la explotación infectada las operaciones preliminares de limpieza y desinfección con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11. Cuando se levanten esas medidas, la zona de protección pasará a formar parte de la zona de vigilancia.

4. En la zona de vigilancia se aplicarán las siguientes medidas:

a) localización de todas las explotaciones de la zona con aves de corral;

b) control de los desplazamientos de las aves de corral y de los huevos para incubar dentro de la zona;

c) prohibición de sacar aves de corral fuera de la zona durante los quince primeros días, excepto para enviarlas directamente a un matadero situado fuera de la zona de vigilancia y designado por la autoridad competente, en cuyo caso la carne de estas aves deberá llevar la marca de inspección veterinaria especial establecida en el artículo 5 de la Directiva 91/494/CEE;

d) prohibición de sacar huevos para incubar fuera de la zona de vigilancia, salvo que se envíen a una incubadora designada por la autoridad competente. Antes de ser enviados, los huevos y sus envases deberán ser desinfectados;

e) prohibición de sacar estiércol de aves de corral o sus yacijas fuera de la zona;

f) prohibición de celebrar ferias, mercados, exposiciones y demás concentraciones de aves de corral o de cualquier otro tipo de aves;

g) sin perjuicio de los casos previstos en las letras a) y b), prohibición de transportar aves de corral, exceptuando el tránsito por las carreteras y líneas férreas más importantes.

5. Las medidas aplicadas en la zona de vigilancia se mantendrán al menos durante treinta días después de haberse realizado en la explotación infectada las operaciones preliminares de limpieza y desinfección con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11.

6. En caso de que las zonas estuvieran ubicadas en el territorio de varios Estados miembros, las autoridades competentes de los Estados miembros afectados colaborarán con el fin de delimitar las zonas a las que se hace referencia en el apartado 1. En caso de que fuera necesario se delimitarán, de todos modos, la zona de protección y la zona de vigilancia con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 25.

7. Cuando la investigación epidemiológica contemplada en el artículo 7 confirme que el foco se debe a una infección que no presenta ampliación alguna, la dimensión y la duración de aplicación de las zonas de protección y de vigilancia podrán ser reducidas con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 25.

Artículo 10

Los Estados miembros velarán por que:

a) la autoridad competente establezca las normas que le permitan seguir los desplazamientos de huevos, aves de corral y de aves que están en cautividad;

b) a petición de la autoridad competente, el propietario o el poseedor de aves de corral y/o de palomas mensajeras y/o de aves que están en cautividad deba facilitarle los datos sobre las entradas y salidas de su explotación de aves de corral y huevos, así como los datos relativos a las competiciones o exposiciones en las que hayan participado las palomas mensajeras;

▼B

c) cualquier persona que se dedique al transporte o al comercio de aves de corral, huevos, palomas mensajeras y aves que están en cautividad pueda informar a la autoridad competente sobre los desplazamientos de aves, huevos, palomas mensajeras y aves que están en cautividad que haya transportado o comercializado y aportar cualquier dato referente a dicha información.

Artículo 11

Los Estados miembros velarán por que:

a) los desinfectantes que vayan a utilizarse así como su concentración estén oficialmente autorizados por la autoridad competente;

b) las operaciones de limpieza y desinfección se efectuen bajo la supervisión oficial y con arreglo:

i) a las instrucciones del veterinario oficial,

ii) al procedimiento previsto en el Anexo II para la limpieza y desinfección de las explotaciones infectadas.

Artículo 12

Las tomas de muestras y los análisis de laboratorio que se efectúen para detectar el virus de la enfermedad de Newcastle deberán efectuarse con arreglo a las disposiciones del Anexo III.

Artículo 13

Los Estados miembros velarán por que la autoridad competente adopte todas las medidas necesarias para informar a todos los habitantes de la zona de protección y de vigilancia de las restricciones vigentes y adopte todas las disposiciones que se impongan para la aplicación adecuada de dichas medidas.

Artículo 14

1. Los Estados miembros velarán por que en cada Estado miembro se designen:

a) un laboratorio nacional, que disponga de instalaciones y personal especializado para realizar permanentemente la tipificación completa de las características antigénicas y biológicas del virus de la enfermedad de Newcastle y confirmar los resultados obtenidos por los laboratorios de diagnóstico regionales;

b) un laboratorio nacional encargado de controlar los reactivos utilizados por los laboratorios de diagnóstico regionales;

c) un instituto o laboratorio nacional encargado de controlar la eficacia, potencia y pureza de las vacunas utilizadas con carácter preventivo en su país o almacenadas para una intervención de urgencia.

▼M3

2. Los laboratorios nacionales mencionados en el apartado 1 se encargarán de coordinar las normas y los métodos de diagnóstico, el uso de reactivos y el ensayo de vacunas.

3. Los laboratorios nacionales mencionados en el apartado 1 se encargarán de coordinar las normas y los métodos de diagnóstico establecidos en cada laboratorio de diagnóstico de la enfermedad de Newcastle del Estado miembro. Para ello:

▼B

a) podrán proporcionar a los laboratorios nacionales reactivos para el diagnóstico;

b) controlarán la calidad de todos los reactivos de-diagnóstico utilizados en ese Estado miembro;

c) organizarán periódicamente pruebas comparativas;

d) mantendrán aislados virus de la enfermedad de Newcastle recogidos de casos confirmados en ese Estado miembro;

e) velarán por confirmar los resultados positivos obtenidos en los laboratorios de diagnóstico regionales.

▼M3

4. Los laboratorios nacionales a los que se refiere el apartado 1 se mantendrán en contacto con el laboratorio comunitario de referencia mencionado en el artículo 15.

5. Los Estados miembros llevarán listas actualizadas de los laboratorios o institutos nacionales mencionados en el apartado 1 y las pondrán a disposición de los demás Estados miembros y del público.

Podrán adoptarse normas de desarrollo para la aplicación uniforme del presente apartado de conformidad con el procedimiento al que se refiere el artículo 25, apartado 2.

▼M4

Artículo 15

1. La Comisión, mediante actos de ejecución, designará un laboratorio de referencia de la Unión Europea para la enfermedad de Newcastle. Dichos actos de ejecución se adoptarán de conformidad con el procedimiento de examen a que se refiere el artículo 25.

2. Serán funciones y cometidos del laboratorio de referencia de la Unión Europea para la enfermedad de Newcastle:

a) coordinar, en consulta con la Comisión, los métodos empleados en los Estados miembros para el diagnóstico de la enfermedad de Newcastle, especialmente mediante:

   i) el tipado, almacenamiento y suministro de cepas del virus de la enfermedad de Newcastle para la realización de pruebas serológicas y la preparación de antisueros,

   ii) el suministro de sueros normalizados y otros reactivos de referencia a los laboratorios nacionales de referencia para armonizar las pruebas y los reactivos utilizados en los Estados miembros,

   iii) la constitución y conservación de una colección de cepas y aislados del virus de la enfermedad de Newcastle,

   iv) la organización periódica de pruebas comparativas de los procedimientos de diagnóstico a nivel de la Unión,

   v) la recogida y el cotejo de datos y de información sobre los métodos de diagnóstico utilizados y los resultados de las pruebas efectuadas en la Unión,

   vi) la caracterización de aislados del virus de la enfermedad de Newcastle mediante los métodos disponibles más avanzados, para fomentar una mejor comprensión de la epidemiología de la enfermedad de Newcastle,

▼M4

vii) el seguimiento de la evolución en todo el mundo de la vigilancia, la epidemiología y la prevención de la enfermedad de Newcastle,

viii) la compilación de conocimientos y experiencia sobre el virus de la enfermedad de Newcastle y otros afines para poder hacer un diagnóstico diferencial rápido,

ix) la adquisición de un conocimiento profundo sobre la preparación y utilización de los medicamentos inmunológicos veterinarios empleados para la erradicación y el control de la enfermedad de Newcastle;

b) contribuir activamente al diagnostico de focos de la enfermedad de Newcastle en los Estados miembros, recibiendo aislados víricos para confirmar el diagnóstico, proceder a su caracterización y estudio epidemiológico;

c) facilitar la formación o la puesta al día de expertos en diagnóstico de laboratorio, con vistas a armonizar las técnicas en toda la Unión.

▼B

Artículo 16

1. Los Estados miembros velarán por que:

a) la vacunación contra la enfermedad de Newcastle mediante vacunas autorizadas por la autoridad competente pueda realizarse en el marco de medidas profilácticas o como complemento de las medidas de lucha contra dicha enfermedad en el momento de su aparición;

b) únicamente se autoricen las vacunas que hayan recibido una autorización de comercialización por parte de la autoridad competente del Estado miembro en el que se utilice dicha vacuna.

2. Con arreglo al procedimiento definido en el artículo 25, podrán establecerse otros criterios relativos a la utilización de vacunas contra la enfermedad de Newcastle.

Artículo 17

1. Los Estados miembros en los que se practique la vacunación preventiva, voluntaria u obligatoria, contra la enfermedad de Newcastle de las aves de corral informarán de ello a la Comisión y a los demás Estados miembros.

2. En la información transmitida con arreglo al apartado 1, deberán precisarse:

— las características y composición de cada tipo de vacuna utilizado,

— las modalidades de supervisión de la distribución, del almacenamiento y de la utilización de las vacunas,

— las especies y categorías de aves de corral que deban ser vacunadas o que puedan serlo,

— las zonas en que pueda o deba efectuarse la vacunación,

— los motivos por los cuales se ha efectuado la vacunación.

▼B

3. Los Estados miembros podrán disponer la puesta en marcha de un programa de vacunación de las palomas mensajeras. Si así fuera, deberán informar de ello a la Comisión. Sin perjuicio de dicho programa, los Estados miembros velarán por que los organizadores de concursos y exposiciones tomen las disposiciones necesarias para que solamente sean inscritas en competiciones o exposiciones las palomas mensajeras que hayan sido vacunadas contra la enfermedad de Newcastle.

4. Las normas de desarrollo del presente artículo, especialmente en lo que se refiere a los criterios a tener en consideración, así como las posibles excepciones que puedan ser concedidas habida cuenta del estatuto sanitario de los Estados miembros, serán fijadas con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 25.

Artículo 18

1. Cuando se haya comprobado un brote de enfermedad de Newcastle, los Estados miembros velarán por que la autoridad competente, con el fin de completar las otras medidas de control previstas en el presente Reglamento, pueda delimitar un territorio y un período en los que, bajo control oficial, se realizará la vacunación rápida y sistemática (vacunación de urgencia) de las especies designadas de aves de corral. Los Estados miembros que apliquen la vacunación de urgencia informarán a la Comisión y a los demás Estados miembros a través del Comité veterinario permanente, creado mediante la Decisión 68/361/CEE ([1]), sobre la situación con respecto a la enfermedad de Newcastle y el programa de vacunación de urgencia.

2. En el caso contemplado en el apartado 1, estará prohibido vacunar o revacunar aves de corral en las explotaciones sometidas a las restricciones a que se refiere el artículo 4.

3. En el caso contemplado en el apartado 1:

a) deberán vacunarse lo antes posible las especies de aves de corral designadas;

b) toda ave de corral de las especies designadas nacida o introducida en una explotación de la zona de vacunación deberá ser o estar vacunada;

c) durante la vacunación contemplada en el apartado 1, toda ave de corral de las especies designadas deberá permanecer en la zona de vacunación, excepto cuando se trate de:

— pollitos de un día de edad destinados a una explotación de la zona de vacunación donde serán vacunados,

— aves trasladadas directamente a un matadero de la zona de vacunación para su sacrificio inmediato. Cuando el matadero esté situado fuera de la zona de vacunación, únicamente se permitirán movimientos de aves de corral después de que el veterinario oficial haya efectuado una inspección sanitaria de la explotación;

([1]) DO nº L 255 de 18.10.1968, p. 23.

▼B

d) al término de las operaciones de vacunación previstas en la letra a), podrá autorizarse la salida de la zona de vacunación de:

— pollitos de un día destinados a la producción cárnica de una explotación, donde deberán ser vacunados; la explotación deberá mantenerse bajo vigilancia hasta que las aves que se hayan trasladado allí hayan sido sacrificadas,

— aves de corral vacunadas más de veintiún días antes, siempre que vayan a ser sacrificadas inmediatamente,

— huevos para incubar procedentes de aves de corral de reproducción vacunadas al menos veintiún días antes, siempre que los huevos y sus envases se hayan desinfectado.

4. Las medidas previstas en las letras b) y d) del apartado 3 se aplicarán durante un período de tres meses, renovable por períodos sucesivos de tres meses, al término de las operaciones de vacunación establecidas en el apartado 1.

5. No obstante lo dispuesto en las letras a) y b) del apartado 3, la autoridad competente podrá decidir que no se sometan a vacunación sistemática determinadas manadas de aves de corral de especial valor científico, siempre y cuando la autoridad competente adopte todas las disposiciones necesarias para proteger su salud y las sometan a controles serológicos periódicos.

6. La Comisión seguirá la evolución de la situación de la enfermedad y, si fuere necesario, recurrirá al procedimiento establecido en el artículo 25 para tomar una decisión relativa especialmente al control de movimientos y de la vacunación.

Artículo 19

1. Cuando se sospeche que hay palomas mensajeras o aves que están en cautividad infectadas por la enfermedad de Newcastle, los Estados miembros velarán por que el veterinario oficial ponga inmediatamente en práctica los medios de investigación oficiales encaminados a confirmar o descartar la presencia de la enfermedad; en particular, el veterinario oficial efectuará o hará efectuar las tomas de muestras pertinentes con vistas a su examen en laboratorio.

2. Desde la notificación de la sospecha, la autoridad competente someterá al palomar o a la explotación a vigilancia oficial y, en particular, ordenará que ninguna paloma, ave que está en cautividad, ni nada que pueda transmitir la enfermedad de Newcastle, salga del palomar o de la explotación.

3. Las medidas establecidas en los apartados 1 y 2 se levantarán únicamente cuando el veterinario oficial haya descartado la sospecha de enfermedad de Newcastle.

4. Cuando la infección se confirme oficialmente, la autoridad competente ordenará, en particular:

a) la aplicación de las medidas de control y erradicación establecidas en las letras a), b), e) y f) del apartado 1 del artículo 5 a las palomas mensajeras o a las aves que están en cautividad y a los palomares o a las explotaciones infectados por la enfermedad de Newcastle; o

▼B

b) al menos;

i) la prohibición de movimientos de las palomas o de las aves que están en cautividad fuera del palomar o de la explotación durante un período mínimo de sesenta días a partir de la desaparición de síntomas clínicos de la enfermedad de Newcastle,

ii) la destrucción o tratamiento de todo material o desperdicio que pueda estar contaminado. El tratamiento deberá garantizar la destrucción de todos los virus presentes de la enfermedad de Newcastle y de todos los desperdicios acumulados durante el período de sesenta días mencionado en el inciso i);

c) una investigación epidemiológica de conformidad con lo establecido en el artículo 7.

▼M4

5. Siempre que lo requiera la correcta aplicación de las medidas establecidas en el presente artículo, los Estados miembros proporcionarán a la Comisión, en el marco del Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos, información sobre la situación de la enfermedad y las medidas de control aplicadas.

6. La Comisión, mediante actos de ejecución, podrá establecer normas relativas a la información que deben proporcionar los Estados miembros a la Comisión conforme a lo dispuesto en el apartado 5 del presente artículo. Dichos actos de ejecución se adoptarán de conformidad con el procedimiento de examen a que se refiere el artículo 25.

▼B

Artículo 20

1. Queda prohibido utilizar en la alimentación de las aves de corral las aguas grasas procedentes de medios de transporte internacionales, tales como buques, vehículos terrestres y aeronaves. Estas aguas grasas deberán ser recogidas y destruidas bajo supervisión oficial.

2. La utilización de aguas grasas distintas de las indicadas en el apartado 1 o de desperdicios de aves de corral en la alimentación de las aves de corral únicamente podrá autorizarse tras haberlos sometido a un tratamiento térmico en instalaciones apropiadas que garantice la no transmisión de la enfermedad y la destrucción del virus de la enfermedad de Newcastle.

3. En caso necesario, la Comisión establecerá las normas de desarrollo del apartado 2, con arreglo al procedimiento contemplado en el artículo 25.

▼M4

Artículo 21

1. Cada Estado miembro preparará un plan de intervención en el que se especifiquen las medidas nacionales que deban aplicarse en caso de que se registren brotes de la enfermedad de Newcastle. El plan de intervención se actualizará, según proceda, teniendo en cuenta la evolución de la situación.

Este plan permitirá el acceso a las instalaciones, equipo, personal y cualquier otro material adecuado que sean necesarios para la rápida y eficaz erradicación del brote de la enfermedad de Newcastle. Indicará de manera precisa las necesidades de vacuna que cada Estado miembro estime que debe tener cubiertas para una vacunación de urgencia.

▼M4

2. Los planes de intervención y sus actualizaciones se presentarán a la Comisión.

3. La Comisión examinará los planes de intervención y sus actualizaciones para determinar si permiten alcanzar el objetivo perseguido y propondrá al Estado miembro de que se trate cualquier modificación que sea necesario introducir, en particular para que resulten compatibles con los de los demás Estados miembros.

La Comisión aprobará los planes de intervención y sus actualizaciones, modificados si fuera necesario, de conformidad con el procedimiento de examen a que se refiere el artículo 25.

4. La Comisión, mediante actos de ejecución, podrá establecer los criterios que deban aplicar los Estados miembros para elaborar los planes de intervención. Dichos actos de ejecución se adoptarán de conformidad con el procedimiento de examen a que se refiere el artículo 25.

▼B

Artículo 22

Los expertos de la Comisión podrán realizar inspecciones *in situ*, en la medida en que ello resulte necesario para la aplicación uniforme de la presente Directiva y en colaboración con las autoridades competentes. Para ello, podrán verificar, inspeccionando un porcentaje representativo de establecimientos, si las autoridades competentes están comprobando que en éstos se respeta lo dispuesto en la presente Directiva. La Comisión comunicará a los Estados miembros los resultados de las inspecciones efectuadas.

El Estado miembro en cuyo territorio se realice una inspección facilitará a los expertos la asistencia necesaria para el desempeño de sus funciones.

Las normas de desarrollo del presente artículo se establecerán con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 25.

Artículo 23

Las condiciones de participación financiera de la Comunidad en las acciones relacionadas con la aplicación de la presente Directiva están definidas en la Decisión 90/424/CEE.

Artículo 24

Los Anexos serán modificados, cuando fuere necesario, por el Consejo, por mayoría cualificada y a propuesta de la Comisión, en particular para adaptarlos a la evolución de las investigaciones y de los procedimientos de diagnóstico.

▼**M4**

Artículo 25

1. La Comisión estará asistida por el Comité Permanente de Vegetales, Animales, Alimentos y Piensos establecido por el artículo 58, apartado 1, del Reglamento (CE) n.º 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo ([1]). Dicho Comité será un comité en el sentido del Reglamento (UE) n.º 182/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo ([2]).

2. En los casos en que se haga referencia al presente artículo, será de aplicación el artículo 5 del Reglamento (UE) n.º 182/2011.

▼**B**

Artículo 26

1. Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para dar cumplimiento a lo dispuesto en la presente Directiva antes del 1 de octubre de 1993. Informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

2. Los Estados miembros comunicarán a la Comisión el texto de las disposiciones básicas de derecho interno que adopten en el ámbito regulado por la presente Directiva.

Cuando los Estados miembros adopten tales disposiciones, éstas contendrán una referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de dicha referencia en el momento de su publicación oficial. Las características de tal referencia las determinarán los Estados miembros.

Artículo 27

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

([1]) Reglamento (CE) n.º 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria (DO L 31 de 1.2.2002, p. 1).

([2]) Reglamento (UE) n.º 182/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de febrero de 2011, por el que se establecen las normas y los principios generales relativos a las modalidades de control por parte de los Estados miembros del ejercicio de las competencias de ejecución por la Comisión (DO L 55 de 28.2.2011, p. 13).

▼B

ANEXO I

AUTORIZACIÓN PARA EXTRAER HUEVOS DE UNA EXPLOTACIÓN QUE ESTÉ SUJETA A LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS EN LA LETRA e) DEL APARTADO 2 DEL ARTÍCULO 4 DE LA PRESENTE DIRECTIVA

La autorización expedida por la autoridad competente a efectos de transporte de huevos de una explotación sospechosa sujeta a lo dispuesto en la letra e) del apartado 2 del artículo 4 hacia un establecimiento autorizado para la fabricación y tratamiento de ovoproductos conforme a lo dispuesto en el apartado 1 del artículo 6 de la Directiva 89/437/CEE, denominado en lo sucesivo «establecimiento designado», deberá ajustarse a los siguientes requisitos:

1) para que puedan extraerse huevos de la explotación sospechosa, éstos deberán:

   a) ajustarse a lo dispuesto en el capítulo IV del Anexo de la Directiva 89/437/CEE,

   b) ser enviados directamente de la explotación sospechosa al establecimiento designado; el veterinario oficial de la explotación sospechosa deberá precintar cada envío previamente a su salida, quedando éstos precintados mientras dure el transporte hasta el establecimiento designado;

2) el veterinario oficial de la explotación sospechosa informará a la autoridad competente del establecimiento designado de su intención de enviarle los huevos;

3) la autoridad competente responsable del establecimiento designado se cerciorará de que:

   a) los huevos a que hace referencia la letra b) del punto 1 permanezcan aislados de los demás huevos desde su llegada hasta su tratamiento,

   b) las cáscaras de los mismos serán consideradas como material de alto riesgo con arreglo a lo dispuesto en el apartado 2 del artículo 2 de la Directiva 90/667/CEE ([1]) y serán tratadas conforme a lo dispuesto en el capítulo II de la misma Directiva,

   c) el material de embalaje, los vehículos utilizados para el transporte de los huevos a que hace referencia la letra b) del punto 1, así como todos los lugares que hayan entrado en contacto con los huevos deberán limpiarse y desinfectarse de tal forma que quede eliminado todo virus de la enfermedad de Newcastle,

   d) el veterinario oficial de la explotación sospechosa será informado de cualquier expedición de huevos tratados.

([1]) Directiva 90/667/CEE del Consejo, de 27 de noviembre de 1990, por la que se establecen las normas veterinarias relativas a la eliminación y transformación de desperdicios animales, a su puesta en el mercado y a la protección de los agentes patógenos en los piensos de origen animal o a base de pescado, y por la que se modifica la Directiva 90/425/CEE (DO nº L 363 de 27.12.1990, p. 51).

▼B

ANEXO II

PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE UNA EXPLOTACIÓN INFECTADA

I. **Limpieza previa y desinfección**

a) En cuanto se retiren los cadáveres de aves de corral con vistas a su eliminación, las partes de los locales en que se hubieran encontrado dichas aves, así como cualquier parte del edificio, corral, etc. contaminado durante el sacrificio o la inspección *post mortem* deberán rociarse con desinfectante autorizado conforme a lo dispuesto en el artículo 11 de la presente Directiva.

b) Todo tejido de ave y huevos que pudiera haber contaminado edificios, corrales, utensilios, etc. deberá recogerse con cuidado a fin de que se elimine junto con los cadáveres.

c) El desinfectante utilizado deberá permanecer sobre la superficie tratada durante al menos 24 horas.

II. **Limpieza final y desinfección**

a) Deberá eliminarse de cualquier superficie con un producto desengrasante la grasa y las manchas que se lavarán posteriormente con agua.

b) Tras el lavado con agua que se menciona en la letra a), se rociarán nuevamente las superficies con desinfectante.

c) Una vez transcurridos siete días, los locales deberán tratarse mediante un producto desengrasante, enjuagarse con agua fría, rociarse con desinfectante y enjuagarse de nuevo con agua.

d) El estiércol o yacijas utilizadas deberán tratarse mediante un método idóneo para eliminar el virus. Dicho método deberá incluir al menos una de las siguientes manipulaciones:

i) se incinerarán o se tratarán por vapor a una temperatura de 70 °C;

ii) se enterrarán a una profundidad que impida el acceso a animales dañinos y aves salvajes;

iii) se amontonarán y humidificarán (si resultare necesario para facilitar la fermentación), se cubrirán para mantener el calor de forma que se alcance una temperatura de 20 °C y se mantendrán cubiertos durante 42 días de modo que se evite el acceso de animales dañinos y aves salvajes.

▼B

ANEXO III

PROCEDIMIENTO PARA LA CONFIRMACIÓN Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Los siguientes procedimientos de aislamiento y caracterización de los virus de la enfermedad de Newcastle han de considerarse como directrices y constituyen los requisitos mínimos que deben aplicarse en el diagnóstico de dicha enfermedad.

El virus responsable de la enfermedad de Newcastle es la especie tipo de la familia Paramyxoviridae. Hasta ahora, existen nueve grupos serológicamente diferenciables de paramixovirus aviarios, que se han denominado PMV-1 a PMV-9. Todos los virus de la enfermedad de Newcastle se sitúan en el grupo PMV-1. A los efectos de los procedimientos de diagnóstico para la confirmación y el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Newcastle, se empleará la siguiente definición:

Por enfermedad de Newcastle se entiende una infección producida por cualquier cepa aviaria del paramixovirus 1, con un índice de patogenicidad intracerabral (IPIC) superior a 0,7 en pollitos de un día de edad.

CAPÍTULO 1

Toma de muestras y tratamiento de las mismas

1. *Muestras*

   Escobillados de cloaca (o materias fecales) y escobillados traqueales de aves enfermas; materias fecales o contenido intestinal, tejido cerebral, tráquea, pulmones, hígado, bazo y otros órganos manifiestamente afectados procedentes de aves recién fallecidas.

2. *Tratamiento de las muestras*

   Aunque los órganos y los tejidos mencionados en el punto 1 pueden mezclarse, las materias fecales deberán tratarse por separado. Se sumergirán completamente los escobillados en una cantidad suficiente de medio con antibióticos. A su vez, las muestras de materias fecales y de órganos deberán homogeneizarse (en un mezclador cerrado o utilizando una mano y un mortero y arena esterilizada) en un medio con antibióticos para convertirlas en suspensiones en ese medio al 10-20 % p/v. Posteriormente, esas suspensiones se dejarán a temperatura ambiente durante dos horas aproximadamente (o durante más tiempo a una temperatura de 4 °C) y se clarificarán por centrifugación (por ejemplo, de 800 a 1 000 g durante 10 minutos).

3. *Medio con antibióticos*

   Diferentes laboratorios han utilizado distintos medios con antibióticos, con buenos resultados. Los laboratorios enumerados en el Anexo II podrán asesorar al respecto. Para las muestras de materias fecales es necesaria una fuerte concentración de antibióticos; así, una mezcla típica es la siguiente: 10 000 unidades/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomicina, 0,25 mg/ml de gentamicina y 5 000 unidades/ml de micostatina en una solucion salina amortiguadora de fosfato. Estos niveles pueden reducirse hasta cinco veces cuando se trabaje con tejidos y escobillados traqueales. Para evitar el crecimiento de *Chlamydia*, pueden añadirse 50 mg/ml de oxitetraciclina. Al elaborar el medio, es imprescindible comprobar el pH después de añadir los antibióticos y corregirlo hasta que fluctúe entre 7,0 y 7,4.

CAPÍTULO 2

Aislamiento del virus

Aislamiento del virus en huevos embrionados de gallina

Deberán inocularse dosis de 0,1 a 0,2 ml del líquido sobrenadante clarificado dentro de la cavidad alantoidea de al menos 4 huevos embrionados de gallina que hayan sido incubados de 8 a 10 días. Es preferible que los huevos procedan de una manada exenta de patógenos específicos, aunque, si ello no fuera posible, podrán utilizarse huevos de una manada exenta de anticuerpos del virus de la enfermedad de Newcastle. Los huevos inoculados deberán mantenerse a 37 °C y se examinarán al trasluz diariamente. Los huevos que contengan embriones

▼B

muertos o moribundos serán refrigerados a 4 °C a medida que se vayan comprobando. Los demás lo serán a la misma temperatura 6 días después de la inoculación. Los fluidos alantoideos o amnióticos se someterán además a la prueba de hemaglutinación. Si la prueba de hemaglutinación resultase negativa, deberá repetirse el procedimiento anterior utilizando fluido alantoideo o amniótico no diluido, como inóculo.

Cuando la hemaglutinación sea positiva, deberá descartarse la posible presencia de bacterias mediante la realización de un cultivo. Si se confirma la presencia de bacterias, podrán filtrarse los fluidos con un filtro de membrana de 450 nm, añadirse más antibióticos e inocularse en huevos embrionados como ya se explicó anteriormente.

CAPÍTULO 3

Diagnóstico diferencial

1. *Diferenciación preliminar*

Todos los virus hemaglutinantes deberán enviarse al laboratorio nacional para su completa identificación y caracterización y para ser objeto de pruebas de patogenicidad. No obstante, como es fundamental que se adopten, lo antes posible, medidas provisionales para limitar la extensión de la enfermedad de Newcastle, los laboratorios regionales deberán ser capaces de detectar el virus de dicha enfermedad. Por ello, los fluidos hemaglutinantes deberán someterse a las pruebas de inhibición de la hemaglutinación descritas en los capítulos 5 y 6. Una inhibición positiva, es decir de 2^4 o más, con antisuero policlonal específico para el virus de la enfermedad de Newcastle (con un título conocido de al menos 2^9), se considerará una identificación preliminar suficiente para imponer medidas provisionales para la lucha contra la enfermedad.

2. *Confirmación*

Un laboratorio nacional deberá efectuar un diagnóstico diferencial completo de todos los agentes hemaglutinantes. La presencia del virus de la enfermedad de Newcastle volverá a confirmarse por inhibición realizando pruebas de inhibición de la hemaglutinación con antisueros de gallina monoespecíficos. Todo el material positivo deberá someterse a la prueba del índice de patogenicidad intracerebral con arreglo al procedimiento descrito en el capítulo 7. Los índices de patogenicidad superiores a 0,7 indicarán que la presencia del virus exige la aplicación de todas las medidas de lucha contra la enfermedad.

Gracias a los últimos progresos realizados en materia de tipificación de los virus de la enfermedad de Newcastle, especialmente las técnicas de anticuerpos monoclonales, ha sido posible agrupar las cepas y microorganismos aislados. Concretamente, se dispone de algunos anticuerpos monoclonales específicos para las cepas utilizadas en las vacunas de la Comunidad Europea. Estos anticuerpos pueden emplearse en pruebas sencillas de inhibición de la hemaglutinación.

Dado que a partir de las aves de corral utilizadas como muestra a menudo pueden aislarse vivas las cepas utilizadas en las vacunas, resulta obvia la ventaja de que los laboratorios nacionales puedan identificarlas con rapidez. El laboratorio comunitario de referencia podrá obtener esos anticuerpos monoclonales y facilitárselos a los laboratorios nacionales para que puedan confirmar el aislamiento de los virus utilizados en las vacunas.

Los laboratorios nacionales deberán enviar todos los agentes hemaglutinantes al laboratorio comunitario de referencia.

3. *Tipificación y caracterización adicional de los virus aislados*

Los laboratorios nacionales enviarán al laboratorio comunitario de referencia todos los virus hemaglutinantes y éste, en consonancia con las funciones y cometidos que le han sido asignados, someterá esos virus a estudios antigénicos y genéticos adicionales para llegar a un mejor conocimiento de la epizootiología de la enfermedad o enfermedades en la Comunidad.

▼B

CAPÍTULO 4

Pruebas rápidas para la detección del virus y los anticuerpos de la enfermedad de Newcastle

Pruebas rápidas para la detección del virus de la enfermedad de Newcastle en aves vacunadas y la detección de anticuerpos en aves no vacunadas.

1. *Detección del virus de la enfermedad de Newcastle*

Se vienen empleando varias pruebas rápidas para detectar directamente los antígenos de la enfermedad de Newcastle en el diagnóstico de infecciones de aves vacunadas; las más extendidas por el momento son la prueba con anticuerpos fluorescentes en secciones longitudinales de la tráquea y la prueba con anticuerpos de la peroxidasa en el encéfalo. No hay motivos para creer que no se pueden aplicar a las infecciones por el virus de la enfermedad de Newcastle otras pruebas de detección directa de antígenos.

Estas pruebas tienen el inconveniente de que no resulta factible examinar todos los posibles puntos de replicación del virus de la enfermedad de Newcastle en las aves vacunadas. Así, la ausencia de indicios del virus en la tráquea, por ejemplo, no excluye que éste se replique en el intestino. No se recomienda ningún método determinado de detección directa para su uso rutinario, si bien, en determinadas circunstancias, pueden ser de utilidad.

2. *Detección de anticuerpos en aves no vacunadas*

La mayoría de los laboratorios que efectúan diagnósticos de la enfermedad de Newcastle conocen la prueba de inhibición de la hemaglutinación. Las recomendaciones que vienen a continuación se refieren a esta prueba para la medición de anticuerpos del virus. No obstante, la prueba de inmunosorción con enzimas (ELISA) puede dar buenos resultados cuando se usa para detectar los anticuerpos del virus. Se aconseja que, cuando los laboratorios regionales deseen servirse de la prueba ELISA, ésta sea supervisada por el laboratorio nacional contemplado en el Anexo II.

a) Muestras

Deberán tomarse muestras de sangre de todas las aves cuando la manada esté compuesta de menos de 20 animales y muestras de 20 aves cuando la manada sea mayor (de este modo, la probabilidad de detectar al menos un suero positivo será de 99 % si el 25 % o más de la manada es positivo, independientemente del tamaño de ésta). Deberá dejarse que la sangre se coagule y se extraerá el suero para la prueba.

b) Examen de los anticuerpos

Se probará la capacidad de las muestras individuales de suero para inhibir el antígeno hemaglutinante del virus de la enfermedad de Newcastle en pruebas estándar de inhibición de la hemaglutinación efectuadas de acuerdo con el capítulo 6.

Como las opiniones difieren en cuanto a la utilización de 4 u 8 unidades de hemaglutinina en la prueba de inhibición de la hemaglutinación, y al parecer ambas dosis son válidas, la elección se deja al arbitrio de los laboratorios nacionales. Téngase en cuenta, sin embargo, que del antígeno utilizado dependerá el nivel en el que un suero sea considerado positivo: con 4 unidades de hemaglutinina, un suero se considerará positivo cuando presente un título superior o igual a 2^4; mientras que con 8 unidades, el título deberá ser igual o superior a 2^3.

CAPÍTULO 5

Prueba de hemaglutinación (HA)

Reactivos

1. Solución salina isotónica amortiguadora de fosfato (0,05 M) de pH 7,0 a 7,4.

▼B

2. Hematíes extraídos de un mínimo de 3 gallinas exentas de patógenos específicos (a falta de éstas, podrá utilizarse sangre de aves que hayan estado bajo control regular y que estén exentas de anticuerpos del virus de la enfermedad de Newcastle), reunidos y mezclados a partes iguales con solución de Alsever. Antes de utilizarlos, los hematíes deberán lavarse tres veces en la solución salina isotónica amortiguadora de fosfato. Para la prueba, se recomienda una suspensión en dicha solución al 1 % (hematíes empaquetados v/v).

3. Se recomienda la utilización como antígeno estándar de la cepa de virus de la enfermedad de Newcastle Ulster 2C.

Procedimiento

a) Distribuir 0,025 ml de solución salina isotónica amortiguadora de fosfato en cada uno de los pocillos de una placa de microtitulación (utilizar pocillos con fondo en V).

b) Introducir 0,025 ml de suspensión de virus (es decir, fluido alantoideo) en el primer pocillo.

c) Utilizar una micropipeta para hacer diluciones del virus a la mitad (de 1:2 a 1:4 096) en toda la placa.

d) Distribuir otros 0,025 ml de solución salina isotónica amortiguadora de fosfato en cada pocillo.

e) Añadir 0,025 ml de una suspensión al 1 % de hematíes a cada pocillo.

f) Homogeneizar golpeando ligeramente la placa y refrigerarla a 4 °C.

g) Leer las placas después de 30 o 40 minutos, cuando se hayan sedimentado los controles. La lectura se efectuará inclinando la placa y observando la presencia o ausencia de un movimiento de los hematíes en forma de lágrima. Los pocillos en los que no se haya producido la hemaglutinación deberán presentar un movimiento similar al de los pocillos de control que no contengan virus.

h) El título de hemaglutinación será la mayor dilución que produzca la aglutinación de los hematíes. Puede considerarse que tal dilución contiene el título de hemaglutinación. Otro método más preciso para determinar el título de hemaglutación consiste en realizar pruebas de hemaglutinación con virus en una gama de diluciones iniciales muy cercanas entre sí, por ejemplo, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, etc. Este método se recomienda para preparar con gran precisión antígenos para las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (véase el capítulo 6).

CAPÍTULO 6

Prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH)

Reactivos (véase el capítulo 5)

a) Solución salina isotónica amortiguadora de fosfato.

b) Fluido alantoideo que contenga el virus, diluido con solución salina isotónica amortiguadora de fosfato hasta que contenga 4 u 8 unidades de hemaglutinación por cada 0,025 ml.

c) Suspensión de hematíes de gallina al 1 %.

d) Suero de gallina de control negativo.

e) Suero de control positivo.

Procedimiento

a) Distribuir 0,025 ml de solución salina isotónica amortiguadora de fosfato en cada uno de los pocillos de una placa de microtitulación de plástico (utilizar pocillos con fondo en V).

b) Introducir 0,025 ml de suero en el primer pocillo de la placa.

c) Utilizar una micropipeta para hacer diluciones a la mitad del suero en toda la placa.

d) Añadir 0,025 ml de fluido alantoideo diluido que contenga 4 u 8 unidades de hemaglutinación.

e) Homogenizar golpeando ligeramente la placa y refrigerarla a 4 °C al menos durante 60 minutos o dejarla a temperatura ambiente durante 30 minutos como mínimo.

▼B

f) Añadir 0,025 ml de suspensión de hematíes al 1 % a todos los pocillos.

g) Homogeneizar golpeando ligeramente las placas y refrigerarlas a 4 °C.

h) Leer las placas después de 30 a 40 minutos, cuando se hayan sedimentado los hematíes de control. La lectura se efectuará inclinando las placas y observando la presencia o ausencia de un movimiento en forma de lágrima similar al de los pocillos de control que contengan hematíes (0,025 ml) y solución salina isotónica amortiguadora de fosfato (0,05 ml) solamente.

i) El título de inhibición de la hemaglutinación será la mayor dilución del antisuero que produzca una inhibición completa de 4 u 8 unidades de virus (en todas las pruebas deberá incluirse una titulación de hemaglutinación para confirmar la presencia de las unidades de hemaglutinación necesarias).

j) La validez de los resultados dependerá de la obtención de un título de menos de 2^3 para 4 unidades de hemaglutinación o de 2^2 para 8 unidades de hemaglutinación con el suero de control negativo y de un título de dilución inmediatamente superior o inmediatamente inferior al título conocido del suero de control positivo.

CAPÍTULO 7

Índice de patogenicidad intracerebral (IVPI)

1. Diluir a 1:10 fluido alantoideo recién recogido e infeccioso (el título de hemaglutinación deberá ser superior a 2^4) en un fluido fisiológico estéril (no podrán utilizarse antibióticos).

2. Inyectar en el cerebro de cada uno de 10 pollitos de un día de edad (es decir, 24 horas y 40 horas después de salir del huevo) 0,05 ml de virus diluido. Los pollitos deberán haber nacido de huevos procedentes de una manada exenta de patógenos específicos.

3. Examinar las aves cada 24 horas durante 8 días.

4. Puntuar todas las aves en cada examen: 0 = normal, 1 = enferma, y 3 = muerta.

5. Calcular el índice del siguiente modo:

Síntomas clínicos	Días despues de la inoculación (número de aves)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	Puntuación
normal	10	4	0	0	0	0	0	0	14 × 0	= 0
enferma	0	6	10	4	0	0	0	0	20 × 1	= 20
muerta	0	0	0	6	10	10	10	10	46 × 2	= 92
									TOTAL = 112	
El índice será la puntuación media por ave y por observación = 112/80 = 1.4										

CAPÍTULO 8

Evaluación de la capacidad de formación de placas

1. Normalmente, lo más conveniente es utilizar una serie de diluciones del virus a fin de obtener un número adecuado de placas en el cultivo. Bastará con diluciones decimales hasta llegar a una concentración de 10^{-7} en la solución salina isotónica amortiguadora de fosfato.

2. Preparar cultivos confluentes de una capa de células de embrión de gallina o una línea celular apropiada (por ejemplo, la línea de riñón de bovino de Madin-Darby) en placas de Petri de 5 cm de diámetro.

3. Introducir 0,2 ml de cada dilución de virus en dos placas de Petri y esperar 30 minutos para que el virus se absorba.

▼B

4. Tras lavar tres veces con la solución salina isotónica amortiguadora de fosfato las células infectadas, se cubrirán con un medio apropiado que contenga agar-agar al 1 % p/v (también puede añadirse 0,01 mg/ml de tripsina). Es importante no añadir suero al medio de recubrimiento.

5. Tras 72 horas de incubación a 37 °C, las placas habrán alcanzado un tamaño adecuado. Para observarlas, conviene retirar la capa de agar-agar y teñir el cultivo de una capa con cristal violeta (0,5 % p/v) en etanol al 25 % (p/v).

6. Todos los virus incubados en un medio que contenga tripsina producirán placas claras. Por el contrario, cuando los medios de cobertura no contengan tripsina, sólo producirán placas los virus virulentos para las gallinas.

▼M3

_____

▼M4

_____