

CMIEET

**Comité Científico Multidisciplinar para la Investigación en
Encefalopatías Espongiformes Transmisibles
Ministerio de Ciencia y Tecnología**

OPINIÓN CIENTÍFICA SOBRE:

***BANCO DE TEJIDOS Y MUESTRAS BIOLÓGICAS DE PROCEDENCIA
ANIMAL (BTA)***

**Adoptada por el CMIEET (Subcomité de Bancos de Tejidos Animales)
en su reunión celebrada en Madrid, el 9 de Octubre de 2001**

Nota:

El Subcomité de Bancos de Tejidos de Procedencia Animal del CMIEET ha elaborado este documento basándose, por lo que se refiere a cuestiones procedimentales, en el examen y discusión de datos publicados en revistas científicas. Así mismo, se han tenido en cuenta otros aspectos, tales como la legislación pertinente, las estructuras existentes relacionadas con los futuros Bancos de Tejidos y las previsiones de necesidades de muestras biológicas para la comunidad científica.

En todo caso, se hace notar que las opiniones vertidas por el CMIEET no vinculan necesariamente al Ministerio de Ciencia y Tecnología.

ÍNDICE

	Página
I. Antecedentes	3
II. Objetivos	3
III. Datos clínicos e identificación de la muestra	4
IV. Protocolo general de tratamiento del tejido/muestra	
V. Solicitud y cesión de tejidos/muestras	5
VI. Aspectos éticos	7
VII. Seguridad de los datos	8
VIII. Reglamento de uso	9
IX. Compromiso de los solicitantes	9
X. Bioseguridad	10
XI. Recursos necesarios y vías de financiación	10
XII. Parámetros de calidad	10
XIII. Coste del material	11
XIV. Hacia una coordinación de los Bancos de Tejidos Animales (BTA) en España.	11
XV. Referencias	13
Anejo 1: Hoja de protocolo	14
Anejo 2: Modelo de requerimientos para un BTA	16

I. ANTECEDENTES

La necesidad de usar tejido nervioso animal en condiciones idóneas es hoy día especialmente importante para el estudio de la patogenia de las enfermedades priónicas animales, especialmente debido al desarrollo de las técnicas de patología molecular que permiten realizar estudios masivos de expresión génica, con trascendencia clínica.

La necesidad de disponer de tejidos animales infectados por priones y la dificultad de su manipulación y almacenamiento hacen necesaria la existencia de centros que reúnan las condiciones necesarias para garantizar su disponibilidad a la comunidad científica.

En Medicina Humana existen los bancos de tejidos neurológicos, también llamados bancos de cerebros los cuales se han constituido, en Europa y Norteamérica principalmente, en una pieza esencial para la investigación básica y aplicada en Neurociencias, y, especialmente, en enfermedades neurodegenerativas (1-4). En nuestro país los bancos de tejidos neurológicos humanos han sido creados como fondos de conservación de tejido nervioso a través de un programa de donantes con o sin enfermedad neurológica o psiquiátrica; su objetivo es ofrecer este tejido a investigadores que dirigen sus esfuerzos al conocimiento y al tratamiento de las enfermedades neurológicas.

En Medicina Veterinaria no existen bancos correspondientes a los citados en humana. En Estados Unidos existen el *Armed Forces Institute of Pathology* (5), centro de referencia en Patología (incluye un gran archivo de neuropatología aunque no dispone de un banco de tejidos) y los Centros de Investigación sobre Fauna Amenazada que dependen de Parques Zoológicos (6), aunque estos últimos se dedican, especialmente, a la conservación de tejidos de especies en peligro de extinción. En España no existe precedente de un Banco de Tejidos Animales (BTA). Los diferentes laboratorios de investigación y de diagnóstico, oficiales y privados, de nuestro país disponen de sus propios archivos. Se trata en general de material fresco o fijado en diferentes medios, disponible para la realización de estudios retrospectivos o como controles para la realización de nuevos estudios. Incluyen tejidos de animales y cultivos celulares infectados, de forma experimental, por lo que se dispone además de la información adicional correspondiente. En todo caso, se trata de colecciones que no están al alcance de todos los investigadores posiblemente interesados.

La presencia de enfermedades priónicas animales en España y la creación de una amplia red de laboratorios oficiales para su diagnóstico hacen necesario disponer en nuestro país de varios BTA. Sin embargo, esta oportunidad no debería limitarse a dichos procesos patológicos sino que, siempre que fuera posible, estos BTA podrían estar abiertos a incluir determinadas enfermedades y especies animales que resulten interesantes en el campo de la Neurología comparada. La red resultante debería estar completamente integrada y coordinada entre sí, con BTA de otros países así como con los correspondientes bancos de tejidos humanos de nuestro país.

II. OBJETIVOS DE LOS BANCOS DE TEJIDOS ANIMALES

Con este documento se pretende establecer las bases de creación y funcionamiento de BTA en España con los objetivos que se detallan a continuación:

- Obtener, caracterizar, procesar, conservar y suministrar tejidos de animales, con especial énfasis en los relacionados con enfermedades priónicas, en condiciones adecuadas para garantizar la investigación científica
- Dotar al país de una infraestructura que facilite la investigación en enfermedades priónicas animales y neuropatología comparada cuyos avances repercutan lo más rápidamente posible en el sistema nacional de salud
- Estudiar tejidos diana (nervioso, linfoide, etc.) en los rumiantes domésticos (vaca, oveja, cabra), así como en aquellas especies animales susceptibles de padecer una enfermedad priónica ya sea de forma natural o experimental.

III. DATOS CLÍNICOS E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

III.1. Animales

Preferentemente rumiantes domésticos (vaca, oveja, cabra) y animales de laboratorio resultantes de infecciones experimentales.

También se podrán tener en cuenta muestras de rumiantes salvajes y de otras especies susceptibles de padecer enfermedad priónica (felinos domésticos y salvajes, visón, primates, etc.) u otros procesos neuropatológicos de interés.

Cada animal dispondrá de su ficha individual que contendrá :

- Datos individuales: número de identificación, especie, raza, sexo, edad, ascendencia/descendencia, etc.
- Origen: identificación de la explotación, condiciones de producción (leche, carne, mixta) incluyendo la alimentación En el caso de animales de laboratorio: identificación del mismo, código del caso o de la experiencia; datos del investigador principal
- Información clínica, incluyendo analítica, diagnóstico clínico, causas de la defunción
- Necropsia: tiempo post-mortem, hallazgos macroscópicos, etc.
- Diagnóstico anatomopatológico, con identificación del laboratorio en que se ha realizado
- Tejidos disponibles.

III.2. Agente infeccioso

Información completa del tipo de **prión** (si se dispone) o cuando se trate de una **infección experimental** del protocolo de infección (cepa usada, dosis, vía de inoculación, etc.). Si se trata de otras patologías: información completa sobre otros agentes presentes de forma natural o experimental, así como de las razones por las que la muestra se haya incorporado a la colección si aquellas no son infecciones por priones.

III.3. Tejidos

Nervioso (encéfalo, médula espinal, ganglios raquídeos y craneales, nervios, ojos) y linfoide (linfonodos, bazo, timo, etc.) y otros tejidos susceptibles de contener priones (tubo digestivo, mesenterio, etc.).

Otros tejidos de interés: líquidos (sangre, suero, líquido cefalorraquídeo) y otros (hígado, riñón, adiposo, etc.).

Podrá tratarse tanto de tejidos fisiológicos en las diferentes clases de edad (jóvenes, adultos, viejos) como patológicos (infección experimental o natural).

Los datos de cada caso serán recogidos por el BTA e integrados en una **base de datos** especialmente diseñada para ello.

IV. PROTOCOLO GENERAL DE TRATAMIENTO DEL TEJIDO/MUESTRA

IV.1. Origen de las muestras

Las muestras a almacenar en el BTA podrán tener diferentes orígenes:

- Animales vivos, remitidos desde la explotación
- Muestras de matadero tipo MER (materiales específicos de riesgo, como encéfalos, vísceras) deberán ser remitidas al BTA inmediatamente después de su extracción, en envases herméticos y sin fijador. En caso de ser necesaria su conservación ésta se realizará en refrigeración, nunca en congelación
- Muestras procedentes de necropsias realizadas fuera del BTA, deberán remitirse en fresco (refrigeradas o congeladas) o en su medio de fijación correspondiente (formol tamponado). En todo caso se tendrá en cuenta la normativa fijada por el BTA
- Muestras procedentes de Laboratorios Regionales de diagnóstico y Centros de Referencia: en fresco, congeladas, fijadas en formol o incluidas en parafina
- Muestras procedentes de estudios de infección experimental: en fresco, congeladas, fijadas en formol o incluidas en parafina.

Todas las muestras deberán ir acompañadas de su correspondiente ficha individual identificativa que incluya, como mínimo, los datos señalados en el apartado III.1.

Tanto a los animales vivos como a las muestras de matadero se les aplicará el tratamiento que se señala en el apartado IV.2.

IV. 2. Extracción y tratamiento del material

Tejidos:

1. Eutanasia y perfusión del cadáver siempre que sea posible y las muestras se destinen exclusivamente al procesado histopatológico
2. Extracción del encéfalo, inmediatamente después de la eutanasia del animal o antes de 24 horas de la defunción del animal
3. Extracción simultánea de otros tejidos
4. Transporte de los tejidos en una nevera con nieve carbónica al laboratorio del BTA donde se procesan las muestras para su posterior conservación
5. Transporte y conservación de los demás tipos de tejidos
6. En la cámara biológica de seguridad tipo II se tratan los tejidos según sus necesidades (congelación, fijación en solución de formol)

7. Para cada órgano se seguirán las indicaciones relacionadas en el documento: *Currently used procedures. Safety. BSE and Scrapie: guidelines on safe working procedures in histopathology laboratories and post-mortem rooms*
8. En el caso del encéfalo, primero se corta el tronco del encéfalo y se separan los dos hemisferios
9. Corte longitudinal del tronco para congelar un aparte a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ mientras que el resto se dispone en inmersión en formol
10. El hemisferio derecho se sumerge en formol durante 1 mes. El hemisferio izquierdo se corta en secciones 1 cm de ancho para favorecer la congelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los cortes se empaquetan y enumeran a partir del lóbulo frontal. Durante el proceso se depositan sobre una plancha metálica que evita el contacto directo con la capa de nieve carbónica
11. Determinadas áreas o núcleos que sean de interés se pueden separar y tratarlas con paraformaldehído o hacer un congelado rápido
12. El hemisferio derecho, tras su estancia de un mes en formol, se corta y las diferentes áreas se preparan para su tratamiento e inclusión en parafina y la posterior realización de los bloques. Estos bloques de parafina permiten realizar los diagnósticos anatomopatológicos, así como poner a disposición de los equipos de investigación las secciones histológicas que soliciten
13. Durante todo el proceso y cuando se estime oportuno se tomarán imágenes fotográficas de los diferentes órganos para adjuntar a la ficha del animal.

Material fresco:

Congelación para estudios bioquímicos (*frozen sections*) y congelado de pequeñas secciones sobre placa fría en nieve carbónica (*snap frozen sections*).

Proceso de congelación: rápida en N_2 líquido, a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y almacenamiento en tubos de tipo Micronics prismáticos (7 ml), organizados en cajas de 7×7 .

Fijación en formol:

Por inmersión del órgano o por perfusión *in toto* del animal.

Fluidos:

1. Sangre con anticoagulante (EDTA para el procesado molecular o heparina para algunas pruebas inmunes):
 - a) La sangre se separará mediante centrifugación en fracción plasmática y fracción celular
 - b) La fracción plasmática se alicuotará en viales de 0.8 ml y se congelará a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en tubos de plástico, preferentemente de tipo Micronics redondos (0.8 ml, 8×12) o prismáticos (7 ml, 7×7), según el volumen
 - c) La fracción celular se lisará con acetato amónico y se centrifugará para recoger las células blancas, las cuales se alicuotaran en viales de tipo Eppendorf y se congelarán a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Otros fluidos: Si procede se separaran las fracciones celular y acuosa por centrifugación, las cuales se alicuotaran por separado y se congelaran a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en tubos de plástico, preferentemente de tipo Micronics redondos (0.8 ml, 8×12) o prismáticos (7 ml, 7×7), según el volumen.

IV. 3. Almacenamiento del material

El material fresco, congelado, se almacenará en envases debidamente identificados y en neveras de congelación a -80°C .

El material fijado en formol se almacenará en recipientes de cierre hermético y sellados al vacío para evitar gases de evaporación.

El material incluido en parafina se almacenará en armarios metálicos.

IV. 4. Caracterización del material

Todas las muestras almacenadas en el BTA deberán ir acompañadas del correspondiente estudio anatomopatológico. Para ello cada BTA dispondrá de un laboratorio propio para realizar dicho estudio o, en todo caso, estará asociado a un centro (Facultades de Veterinaria, laboratorios de anatomía patológica veterinaria) al que se puedan remitir las muestras y obtener el correspondiente estudio e informe histopatológico.

También se adjuntarán aquellos resultados obtenidos en estudios especiales o de investigación (biología molecular, inmunohistoquímica, inmunoquímica, etc.).

Siempre que sea posible el laboratorio anatomopatológico facilitará los estudios necesarios (inmunoquímica, inmunohistoquímica, microscopia electrónica, histoquímica, etc.) para llegar al diagnóstico completo del caso.

Las muestras serán investigadas por técnicas validadas de detección de priones (immunoblotting, ELISA colorimétrico o luminiscente), así como con cuantas otras pruebas bacteriológicas, virológicas, bioquímicas, toxicológicas o de cualquier otro tipo, sean necesarias para descartar o confirmar patologías alternativas o concomitantes y aumentar el caudal de información sobre el material almacenado y su bioseguridad.

V. SOLICITUD Y CESIÓN DE TEJIDOS/MUESTRAS

Los BTA están abiertos a toda la comunidad investigadora relacionada con la patología neurológica, siempre que la utilización de su material tenga fines exclusivamente de investigación.

V.1. Formato de la solicitud: información requerida

Las solicitudes de material para investigación deberán ser formuladas por los investigadores en un documento que especifique el tipo de material requerido, la patología, y el número de muestras requeridas (ver en el ANEXO 1 el impreso de solicitud). Así mismo, los investigadores deberán incluir en la solicitud una memoria explicativa de investigación (redactada en castellano o inglés) donde se haga constar sus fuentes de financiación del proyecto. En la estimación del coste del proyecto se deberá contemplar los costes de la utilización del BTA, según las tarifas correspondientes.

La solicitud de utilización de fondos del BTA podrá realizarse en cualquier momento el año, sin que existan fechas ni plazos predeterminados.

Cuando la solicitud se establezca para documentar la disponibilidad de material con el fin de conseguir financiación, el BTA elaborará un documento donde asegurará dicha

disponibilidad que siempre estará condicionada a la posterior demostración de la viabilidad del proyecto.

V.2. Decisión de la cesión de material: criterios

Las decisiones sobre la cesión del material competen al Comité Científico (CC) del Banco. Para facilitar las muestras/tejidos solicitados por los investigadores se requiere un informe positivo del CC que tenga en cuenta la viabilidad científica y técnica del proyecto y la disponibilidad en el Banco del material específicamente solicitado. La evaluación se realizará por el propio CC que tendrá en cuenta el proyecto científico en el que se inscribe la solicitud y los trabajos previos del equipo investigador, excepto en aquellos proyectos cuya financiación haya implicado una valoración positiva externa (Plan Nacional de I+D+I, Programa Marco, etc.).

Cuando sea preciso limitar el acceso a un cierto tipo de tejido por escasez de muestras de las condiciones requeridas, el CC establecerá un orden de prioridad.

Queda a juicio de los responsables del BTA el ceder muestras tisulares a proyectos cooperativos multinacionales aunque la coordinación del proyecto no sea ejercida desde un equipo español.

V.3. Responsabilidad del investigador

El investigador tiene la responsabilidad de hacer buen uso de un material de investigación escaso. Previo al inicio de los servicios del BTA con relación a un proyecto concreto, el investigador responsable deberá manifestar documentalmente su aceptación de los aspectos éticos, comerciales, funcionales y de autoría definidos por el BTA. El investigador responsable adquiere así mismo el compromiso de la custodia del tejido y de la devolución de los excedentes.

VI. ASPECTOS ÉTICOS

En todas las fases implicadas en el funcionamiento del Banco deberán respetarse de forma absoluta los procedimientos que garanticen una correcta actuación ética. Los protocolos de actuación de todos los BTA deberán ser presentados para su aprobación a los Comités de Ética e Investigación Clínica de los Organismos a los que estén asociados.

Todo tejido aceptado en el BTA procederá de actividad clínica, de diagnóstico o de investigación, debiendo respetarse de forma absoluta los procedimientos que garanticen una correcta actuación ética y que se resumen en los siguientes fundamentos:

- En ningún caso podrá verse comprometido el correcto diagnóstico de una muestra por motivo de la recogida de material para el BTA.
- La base de datos deberá asegurar el mantenimiento de la información e identificación de los casos
- Los correspondientes Comités de Ética e Investigación Clínica deberán analizar los protocolos de actuación del BTA para su estudio y aprobación

VII. SEGURIDAD DE LOS DATOS

La aplicación informática que soportará la actividad y fondos del BTA estará elaborada con especial desarrollo de los mecanismos de seguridad que regulan el acceso a la

información. Todo acceso a las bases de datos, se realizará mediante mecanismos de autenticación, estableciéndose diferentes niveles de operatividad para limitar la posibilidad de modificación de registros.

VIII. REGLAMENTO DE USO

VIII.1. Comité de Dirección

Gestionará el BTA, su funcionamiento, la distribución del material y la coordinación con las instituciones interesadas. Incluirá al responsable del BTA así como representante(s) del Centro al que esté asociado y del Comité Científico.

VIII.2. Comité Científico

La evaluación de las solicitudes de material las llevará a cabo un Comité Científico que estará constituido por representantes del Banco y del Comité Científico del Centro al que esté asociado, así como por los de otras posibles Instituciones de Investigación implicadas.

El Comité Científico, en casos excepcionales de peticiones de muestras podrá designar evaluadores externos y valorar posteriormente sus informes. En todos los casos habrá de aprobar por unanimidad la concesión del material solicitado y las condiciones del mismo, asegurando así el rigor en la utilización de las muestras. También deberá pronunciarse en el caso de que soliciten muestras cuya manipulación no sea la estandarizada.

VIII.3. Funcionamiento de entrega de muestras

Una vez aprobado definitivamente la participación del Banco en un determinado proyecto, se localizarán el número suficiente de casos que reúnan las características previstas en el mismo, y posteriormente, se enviarán al equipo investigador. El procedimiento de envío se realizará según la normativa de bioseguridad correspondiente.

Siempre que sea posible, todo material utilizado en un proyecto quedará señalado en la base de datos durante un período de tiempo a fijar por consenso para favorecer la realización de nuevos cortes en caso de precisarse una ampliación del estudio.

IX. COMPROMISOS DE LOS SOLICITANTES

El equipo de investigación solicitante del material se compromete a mencionar la procedencia del tejido en todos los *abstracts* o artículos científicos que pueden derivarse de la investigación con muestras procedentes del BTA. Esta mención debe figurar al menos, en el apartado de Métodos o en el de Agradecimientos. En los casos que la colaboración del Banco sea especialmente relevante para el desarrollo de los proyectos, se recomienda a los investigadores que se reconozca como parte de la autoría de sus publicaciones.

Los investigadores que reciben el material de los Bancos se comprometen a no ceder parte a otros investigadores para proyectos diferentes del que se menciona en su solicitud.

El solicitante deberá enviar en el término de un año, una memoria de la investigación realizada así como una copia de los *abstracts* o artículos científicos que puedan derivarse de la investigación con las muestras del Banco.

X. BIOSEGURIDAD

Toda manipulación de tejidos infectados conlleva un riesgo de exposición a los agentes infecciosos (priones) que, si bien no puede ser eliminado de forma absoluta, si puede y debe minimizarse al máximo. Tanto los responsables de la captación y almacenamiento de tejidos en el BTA, como los investigadores principales de proyectos que reciban muestras procedentes del BTA asumen la plena responsabilidad de informar y entrenar debidamente a todo el personal investigador y técnico de los riesgos y las medidas óptimas de prevención.

Las normas de seguridad a aplicar serán las que se dicten con relación al manejo de este tipo de agentes. En todo caso, deberán tenerse en cuenta las normativas recogidas en el documento “Bioseguridad” (elaborado por el CMIEET, de próxima publicación), así como las siguientes aplicaciones (7):

- **RD 664/1997 de 12 de Mayo (BOE nº 124, 24 de mayo 1997)** sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (nivel III)
- **Directiva Parlamento y Consejo 2000/54/CE** de protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos en el trabajo
- **RD 3454/2000, de 22 de diciembre (BOE nº 307, 23 de diciembre de 2.000)** por el que se establece y regula el Programa Integral coordinado de vigilancia y control de las encefalopatías espongiiformes transmisibles de los animales.
- *Veterinary Laboratories Agency. “BSE and Scrapie: guidelines on safe working procedures in histopathology laboratories and post-mortem rooms”. VLA-Weybridge, Surrey, 1999.*

XI. RECURSOS NECESARIOS Y VÍAS DE FINANCIACIÓN

Se adjunta en el ANEXO 2 una relación de los requerimientos que se consideran mínimos el funcionamiento de un BTA.

XII. PARÁMETROS DE CALIDAD

XII.1. Funcionamiento

Para asegurar el correcto funcionamiento de los BTA deberán evaluarse, a través de Memorias Anuales, las siguientes variables:

- Calidad en la información clínica y en el diagnóstico anatomopatológico
- Número de casos incorporados al registro
- Número de casos con diagnóstico anatomopatológico definitivo
- Distribución de material a los investigadores. Muestras solicitadas y grupos de investigación que trabajan con material del BTA

- Contribución a la investigación en Neurociencias básicas, aplicadas y otras materias relacionadas, demostrada en publicaciones

El funcionamiento interno del BTA se adecuará a la normativa vigente según Protocolos Normalizados de Trabajo, así como Buenas Prácticas de Laboratorio.

XII.2. Control

Periódicamente se realizarán controles de calidad del funcionamiento del Banco para minimizar las posibles alteraciones en las distintas fases descritas. Estos controles afectarán a los siguientes apartados.

- Identificación y conservación de muestras
- Idoneidad de la fijación o congelación del tejido
- Mantenimiento de los medios materiales
- Transcripción y, adecuación y validación de datos
- Control de códigos de acceso

Estos controles de calidad afectarán deberán seguir la norma ISO 9000:2000.

XIII. COSTE DEL MATERIAL

No se contempla el cobro de muestras, pero sí por la manipulación, mantenimiento y transporte de las mismas. Se favorece así, el ajuste de la petición y se “dignifica” el trabajo de diagnóstico y de mantenimiento del Banco.

En todo caso se considera que las muestras están exentas de cualquier actividad comercial.

XIV. HACIA UNA COORDINACIÓN DE LOS BANCOS DE TEJIDOS ANIMALES EN ESPAÑA

Al igual que ha ocurrido en ámbitos geográficos y políticos más amplios, también en nuestro país es previsible una tendencia a la coordinación e integración de los Bancos de Tejidos Animales emergentes. Si bien la forma final de integración no es aún previsible sí parece posible diseñar el procedimiento inicial de una coordinación a nivel estatal. Esta coordinación permitiría homogeneizar y optimizar protocolos de actuación, y posibilitaría la financiación, al menos parcial, de algunos procesos. Esta coordinación podría estar basada en los siguientes principios metodológicos y organizativos:

1. En conjunto, la red de Bancos de Tejidos Animales podría ser similar a las redes ya constituidas para la vigilancia y el diagnóstico de las EETH, y, de hecho, podría emplear en parte la estructura y los procedimientos de estas redes
2. Existiría una conexión informática entre los distintos centros, que permitiría compartir información sin vulnerar la protección de los datos personales y clínicos ni la información que cada Banco considere que debe mantener como confidencial
3. La constitución de un Comité Científico Asesor para la definición de protocolos de trabajo (clínico, neuropatológico, molecular) consensuados y homogéneos, con reuniones regulares. En este Grupo participarían neurólogos, neuropatólogos y biólogos moleculares vinculados a los distintos Bancos

4. Existiría un Grupo Coordinador de la red que actualizaría la parte común de la base de datos, y recibiría y tramitaría las solicitudes de material por parte de los investigadores
5. La función básica del Grupo Coordinador sería la de transferencia de información y de solicitudes de tejidos y muestras. La información actualizada sobre el material disponible y la decisión sobre la cesión de material en cada caso estaría en el estricto ámbito de actuación de cada Banco implicado
6. Se constituiría, así mismo, un Comité de Gestión de la red, con representación de todos los Bancos integrados, y con representación del organismo oficial donde estuviera ubicado el centro coordinador, y de otros organismos financiadores. Este grupo gestor tomaría decisiones en cuanto a protocolos organizativos, presupuesto anual de la red y distribución del presupuesto, así como para la fijación de tasas por la cesión de tejido
7. La puesta en marcha de la red implicaría unos costes de infraestructura de la propia red (informática, recursos humanos), así como unos costes de optimización de la actividad de cada uno de los Bancos integrados, que no es posible cuantificar en este momento
8. Desde el punto de vista legal y representativo, la red debería estar dotada de una Normativa de Régimen Interno, en la que figuraran sus órganos científicos y de gestión, así como sus funciones respectivas, y debería tener una denominación y un logotipo oficiales

En resumen, cada centro que se incorporara a la red podría ofrecer su material a través de ella, y recibiría de ella apoyo logístico, técnico y financiero.

La red de BTA deberá estar coordinada con la correspondiente red de Bancos de Tejidos y Muestras Neurológicas de la especie humana cuando se establezca en España, la cual también se organizará de forma similar a la descrita para los BTA.

XVI. REFERENCIAS

1. Cairns NJ, Lantos PL. Brain tissue banks in psychiatric and neurological research. *J Clin Pathol* 1996; 49: 870-873.
2. Stefan MD and Royston MC. Brain banks. In: Molecular neuropathology. RW Roberts and JM Polak eds. CUP, 1995.
3. O'Brian C. Brain banks: treasures in store for molecular analysis. *Mol Med Today*, 1996 Jun; 2 (6): 226-7.
4. <http://cnio.es/> web del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas
5. <http://www.afip.org/> web de la Armed Forces Institute of Pathology
6. webs de Zoos, centros de recuperación de especies animales amenazadas, etc.

www.abcnews.go.com/sections/science/dailynews/frozenzoo.html web de los Centros de Investigación sobre Fauna Amenazada que dependen de Parques Zoológicos de Estados Unidos

www.cincyzoos.org/crew/index.htm web del Centro CREW dependiente del Zoo de Cincinnati

www.sandiegozoo.org/cres/frozen.html web del CRES (Centro de Reproducción de Especies Amenazadas) del Zoo de San Diego

www.natzoos.si.edu web del Zoo de Washington

www.auduboninstitute.org/html/wn_frozen_zoo.html web del Centro Audubon

www.future.newsday.com/4/fmon0412.htm web del Centro Audubon

Normas legislativas:

- RD 664/1997 de 12 de Mayo (BOE nº 124, 24 de mayo 1997)
- Directiva Parlamento y Consejo 2000/54/CE
- RD 3454/2000, de 22 de diciembre (BOE nº 307, 23 de diciembre de 2.000)
- *Veterinary Laboratories Agency. "BSE and Scrapie: guidelines on safe working procedures in histopathology laboratories and post-mortem rooms". VLA-Weybridge, Surrey, 1999.*

ANEXO 1: HOJA DE PROTOCOLO

Deberá incluir, como mínimo, los apartados siguientes

Solicitud de tejidos neurológicos

Investigador responsables

Nombre y apellidos:
Lugar de trabajo:
Dirección :
Teléfono; Fax; email :

Enfermedad neurológica solicitada:

Citar los tejidos solicitados:
Descripción de las áreas encefálicas o espinales solicitadas:

Datos del animal

Especie, raza, sexo, edad, etc.

Número de casos solicitados

Condiciones del tejido solicitado

- A. fijado en formol
- B. incluido en parafina
- C. secciones histológicas (especificar grosor)
- D. congelado
- E. otras condiciones o características

Tiempo post-mortem requerido:

Descripción del proyecto en el que se usará el tejido solicitado

- A) Título del proyecto
- B) Hipótesis
- C) Objetivos

Indicar financiación del proyecto (especificar si procede de un organismo oficial)

Proyecto aprobado por el Comité de Investigación:

Especificar el comité que aprobó el proyecto

Citar los 5 trabajos más relevantes publicados por el equipo de investigación en los últimos tres años:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

ANEXO 2 : MODELO DE REQUERIMIENTOS PARA UN BTA

1. Material

1.1. Para la toma de muestras

- Equipo de producción de nieve carbónica
- Equipo de perfusión adaptado a diferentes tamaños/volúmenes
- Arcones de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ con sistemas de clasificación y mantenimiento de muestras, con criotubos
- Material de protección personal para necropsias
- Material quirúrgico desechable para necropsias
- Sierra circular para apertura cavidad encefálica
- Equipo de fotografía digital de alta resolución

1.2. Para el procesamiento y almacenamiento de las muestras

- Cámara de seguridad biológica tipo II
- Armarios de laboratorio de seguridad
- Botes sellados para muestras en formol (equipo de vacío)
- Neveras y arcones congeladores de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Congeladores de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Sistema de cajas de tipo Micronics de 0.8 ml y 7 ml

1.3. Para el diagnóstico de las muestras: Laboratorio de Anatomía Patológica y de Biología Molecular

Los laboratorios estarán especializados en algunas de las técnicas de diagnóstico y podrán disponer en sus propias instalaciones de los equipos para realizar las otras, o coordinarse con otros especializados en las demás para la caracterización de las muestras.

- Banco de tallado (cámara de seguridad tipo II)
- Unidad de corte: Microtomo/Vibrátomo/Criostato
- Procesador automático para la inclusión en parafina
- Unidad formadora de bloques en parafina
- Teñidor automático de preparaciones
- Microscopios
- Disponibilidad (pipetas, fungible) para Inmunohistoquímica, Inmunoquímica, Histoquímica
- Centrifuga de alta capacidad de tubos
- Centrifuga de tipo Eppendorf
- Termociclador para diagnóstico molecular de otras patologías
- Equipos homologados para la realización de las técnicas de diagnóstico por inmunoblotting y ELISA colorimétrico y luminiscente

1.4. Administración

- Archivadores
- Ordenador/impresora para base de datos con conexión a red

2. Personal

Según las necesidades de cada BTA se determinará el personal necesario para el mismo teniendo en cuenta como mínimo:

- Técnico superior, responsable del BTA
- Técnico de laboratorio, para el tratamiento, almacenamiento y conservación de las muestras
- Personal administrativo, para la gestión del BTA y la administración de la base de datos