***Universidad Nacional de Lomas de Zamora***

 ***Facultad de Ciencias Agrarias***



TECNICATURA UNIVERSITARIA EN CALIDAD E INOCUIDAD AGROALIMENTARIA

**Diagnóstico histopatológico animal de las EET en la República Argentina entre 2011-2016**

Tesinista: Sánchez, María Cristina

Tutor: Horacio Sanz

AÑO 2018

INDICE

1. Tema de investigación 4
2. Finalidad 4
3. Lugar de trabajo y vinculación con la tesina 4
4. Introducción 5
5. Hipótesis 5
6. OBJETIVOS 5

6.1 Objetivos generales 5

6.2 Objetivos específicos 5

7. Justificación del trabajo 6

8. Marco Conceptual: 6

8.1. Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) 6

8.2 Scrapie 6-7

8.3 Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) 7-8

8.4 Clasificación Etiológica de las EET humanas 9-10

8.5 EET adquiridas 10

 Kurú 10

8.6 Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica (ECJi) 10

8.7 Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob variante (ECJv) 11-12

8.8 Enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS ) 12

8.9 Insomnio letal familiar (ILf) 12

8.10 Los priones y su biología 13

8.11 ¿Cómo puede una proteína expresada normalmente ser también

un patógeno transmisible? 13-14

9. ¿Cómo se transmite la enfermedad? 15

10. Signos y síntomas de la enfermedad en animales y en el hombre 15

11. Métodos de análisis 16-19

12. Métodos utilizados en el INTA 20

12.1 Flujograma 21

12.2 Muestras recibidas entre 2011-2016 22

13. Inconvenientes al recibir muestras 23

14. Inconvenientes al realizar la técnica de rutina H y E “Hematoxilina y Eosina” 24

15. Acciones de prevención en la Argentina 25-27

16. Conclusión 28

17. Anexos 29-32

18. Bibliografía 33

19. Referencias 34-35

1. Tema de investigación:

Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Priones. Historia. Métodos de detección y estado actual en Argentina.

1. Finalidad:

Describir experiencias y resultados del diagnóstico histopatológico de EET en la Argentina.

1. Lugar de trabajo y vinculación con la tesina

En agosto del año 2004 me incorporo en el área de patología del Instituto de Patobiología de INTA Castelar, desempeñándome en el puesto de mesa de entradas de BSE, recibiendo y rotulando muestras destinadas a diagnóstico mediante técnicas de histología, inmuhistoquímica y bioquímica, luego ingresaba la información en la base de datos. A medida que los años pasaron me fue interesando participar más activamente en laboratorio y me fui perfeccionando con ayuda de los técnicos del área. Actualmente me dedico a realizar cortes y coloraciones de rutina con eosina y hematoxilina, asimismo inclusión en parafina para realizar esos cortes. El motivo de mi tesina es investigar sobre la enfermedad transmitida por priones y así relacionarlo específicamente con mis tareas diarias, también acercarnos a sus inicios y el estado actual en nuestro país.

1. Introducción

Las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET), también llamadas enfermedades por priones, son patologías neurodegenerativas, raras e incurables que afectan a un amplio rango de especies huésped mamíferas, incluido el hombre. Por eso mismo es importantísima la tarea del Laboratorio de diagnóstico, utilizando métodos aprobados y personal capacitado en los últimos conocimientos científicos disponibles.

1. Hipótesis

En el laboratorio oficial del Centro de Investigación de Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) del Instituto de Tecnología Agropecuaria (INTA) Castelar se cumple con los procedimientos y métodos descriptos en el Capítulo 2.4.6.de Manual Terrestre y Capítulo 11.5.21 de Código Sanitario para los Animales Terrestres, Ed. 2012. Funcionando como laboratorio de referencia por resolución OIE (Ref. EEV/SL 35.809) para el diagnóstico de EEB y scrapie. Se confirma que las metodologías utilizadas son eficientes.

1. Objetivos
2. OBJETIVOS GENERALES:

Describir experiencias y resultados del diagnóstico histopatológico de las EET en la Argentina.

1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Eficacia en el uso de técnicas utilizadas para su detección.

Mediante la información adquirida confirmar si la enfermedad es de incidencia alta o baja en nuestro país.

1. Justificación del Trabajo

Demostrar la eficacia del uso de las técnicas histopatológicas utilizadas. Confirmar que el programa de vigilancia y monitoreo que se lleva a cabo en Argentina es efectivo y corrobora que no existe EEB en el país.

1. Marco Conceptual
	1. ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES (TSE)

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (TSE) pertenecen a un grupo de enfermedades neurodegenerativas en animales y en el hombre que pueden transmitirse experimentalmente. La etiología de las TSE naturales en animales es, en la mayoría de los casos, desconocida. Su transmisión puede ser horizontal o vertical y en algunos casos existen factores genéticos implicados.

* 1. SCRAPIE

El scrapie es una enfermedad neurodegenerativa del sistema nervioso central que afecta a las ovejas y a las cabras. La enfermedad se conoce en Gran Bretaña y en otros países de Europa occidental desde hace unos 250 años y posteriormente ha sido descrita prácticamente en todo el mundo. Únicamente Australia y Nueva Zelanda parecen encontrarse libres en la actualidad de esta enfermedad. En 1936 la patología se pudo reproducir experimentalmente en Francia (Cuillé y Chelle, 1939) mediante la inyección intraocular, en ovejas sanas, de médula espinal procedente de una oveja enferma. De esta forma se pudo constatar el largo tiempo de incubación necesario para la aparición de los síntomas (entre 14 y 22 meses).

A principios de los años cincuenta se hizo patente la naturaleza atípica del supuesto patógeno por su extraordinaria resistencia a agentes fisicoquímicos que normalmente inactivan a los virus (Patisson, 1992). En esta época se constató la diferente susceptibilidad al scrapie entre distintas razas de ovejas y en 1965 se estableció el concepto de la barrera interespecífica en la transmisión del scrapie (Patisson, 1965). A partir de entonces se puso en duda la existencia de un ácido nucleico específico.

Finalmente, en 1982 se propuso la hipótesis del prion como una partícula infecciosa de naturaleza proteica responsable del scrapie (Prusiner, 1982).

La sintomatología del scrapie varía ampliamente en cada animal afectado, posiblemente debido a diferencias en la región cerebral afectada, y tiene un desarrollo muy lento. Los signos clínicos más tempranos incluyen cambios en el comportamiento y en el temperamento de los animales afectados. Estos cambios son seguidos por la tendencia del animal a rascarse y frotarse contra objetos fijos, aparentemente con el objetivo de aliviar el picor. Otros signos son la pérdida de coordinación (ataxia cerebral), excesiva ingesta de líquido (polidipsia), pérdida de peso (a pesar de la retención del apetito), mordeduras en las patas, chasqueo de labios, y anomalías en el movimiento acompañadas de temblores y convulsiones.

Los síntomas de la enfermedad aparecen normalmente entre los 2 y 5 años de edad. Las ovejas pueden vivir entre 1 y 6 meses tras la aparición de los síntomas clínicos pero la muerte es inevitable (Stamp, 1962; Dickinson, 1964).

8.3 ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (BSE)

En abril de 1985 se observó por primera vez en una granja del sur de Inglaterra, una vaca frisona adulta con un síndrome neurológico que fue descrito como "hipersensibilidad crónica con síndrome de descoordinación". En este animal se describió un cambio de carácter acompañado de comportamientos agresivos. Siete meses después, y hasta febrero del año 86, en el mismo rebaño se dieron nueve casos más con el mismo rango de síntomas clínicos. En noviembre de ese mismo año, el análisis histopatológico del cerebro de estos animales mostró una gran similitud existente con los cerebros de animales infectados por scrapie. Desde entonces un tipo similar de encefalopatía espongiforme se diagnosticó en varias vacas más e incluso en un antílope africano (Nyala). Hasta 1997 se han contabilizado 170.000 casos de BSE en Gran Bretaña. La importancia de la BSE, aparte de las consecuencias económicas para la industria derivada de la explotación de ganado vacuno, aumentó al considerarse el riesgo potencial que constituía para el hombre. Este riesgo se vio confirmado en 1995 cuando dos adolescentes murieron en Inglaterra con síntomas de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (CJD). Desde entonces 27 personas han muerto de lo que se conoce actualmente como la variante nueva de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (nvCJD) cuyo agente transmisible parece ser indistinguible el de la BSE (Pattison, 1997).

Los signos clínicos de la BSE aparecen típicamente entre los 4 y 5 años de edad como una aprehensión progresiva, hiperestesia y descoordinación del paso con una duración de 1 a 6 meses antes de la muerte.

La BSE se pudo originar por la transmisión del agente de scrapie desde la oveja hasta la vaca a través de una cadena alimentaria mediante el empleo de piensos suplementados con proteína de origen ovino cuyo proceso de fabricación había sido modificado poco tiempo antes (Wilesmith et al, 1988). Otra posible explicación establecería el origen de la enfermedad en los piensos contaminados con proteína procedente de animales salvajes en cautividad e infectados con algún tipo de encefalopatía espongiforme transmisible. Tras la transmisión inicial entre especies, el alimento contaminado por el agente causante de la BSE pudo contribuir al desarrollo de la epidemia. En 1988 Gran Bretaña y, posteriormente, otros países prohibieron la alimentación de rumiantes con piensos suplementados con proteína de rumiante. Actualmente existen indicios que sugieren que la epidemia se encuentra en declive.

La hipótesis que se desarrolló como causa de la BSE fue que durante 1981-2 se produjo una exposición brusca de una cabaña vacuna susceptible en suficientes cantidades a un agente scrapie que contaminaba las harinas de engorde, desarrollando la enfermedad tras una incubación media de 4-5 años.

La explicación más probable de la contaminación de estas harinas se basó de forma primordial en dos hechos. El primero fue que durante la década de los 70-80 se produjo un cambio fundamental en los procesos de fabricación de estas harinas, que detallaremos más adelante. Y en segundo lugar la alta prevalencia del scrapie en la cabaña de los corderos en el Reino Unido.

Desde los años 40 se venían fabricando estas harinas en el Reino Unido y en otros países, como Estados Unidos. En el proceso de fabricación de los mismos, se sometía a la masa inicial de restos animales a una fase de extracción de las grasas, mediante el uso de disolventes hidrocarbonados, como un paso previo para eliminar la fracción grasa. Posteriormente este material resultante bajo en grasas era sometido a otros procesos de cocción a variables temperaturas.

Al parecer la primera modificación que se produjo en los citados años, fue una reducción en el uso de estos disolventes, junto a un cambio en la temperatura de cocción que se aplicaba posteriormente. Por razones desconocidas los sistemas de procesamiento que utilizan la fase previa de disolución parecían más eficaces en la inactivación de posibles priones. Esto podría ser debido bien a una acción directa del material hidrocarbonado en el prion, a la posible mayor efectividad del uso del calor húmedo en la destrucción del prion, o a la presencia de ambos métodos aplicados en un producto con un bajo componente lipídico (< 1 %), que protegería menos a los posibles agentes presentes.

La segunda cuestión fundamental era la alta prevalencia del scrapie del cordero en este país. Esta se vio favorecida por la política de subvenciones de la Unión Europea, que al pagar a los ganaderos por cabeza de ganado, hizo que se mantuvieran con vida corderos hasta edades avanzadas, lo que facilitaba el desarrollo de esta enfermedad en los mismos, aumentando la posibilidad de que pudieran entrar en la cadena de producción de piensos.

Aunque no existe un consenso acerca del riesgo potencial de la BSE para el humano, las evidencias científicas actuales sugieren que este riesgo es probable que sea remoto y que el programa de vigilancia epidemiológica no demostrará ningún cambio en la epidemiología de la CJD en el futuro.

"El Gobierno Británico parecía escuchar tan solo lo que quería oír de lo que decían los científicos" "Su error fue considerar equivalente la ausencia de evidencias de riesgo con la evidencia de que el riesgo fuera nulo o bajo".

8.4 CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LAS EET HUMANAS:

Las EET humanas comprenden:

** Adquiridas o infecciosas,**

** Genéticas o hereditarias**

** De origen desconocido, conocidas habitualmente como formas esporádicas.**

Las primeras evidencias de**transmisión**de la enfermedad en el hombre datan de los años 50 cuando se describió el**kuru,** una patología infecciosa neurodegenerativa que se extendió entre los habitantes de una tribu aborigen de Nueva Guinea debido a sus prácticas rituales caníbales.

En todo los casos el elemento determinante de la infección, el prion, es transmisible dado que ha sido posible reproducir experimentalmente en ratones transgénicos la enfermedad utilizando muestras procedentes de pacientes diagnosticados de las patologías comentadas anteriormente.

De igual forma, otras enfermedades neurodegenerativas animales producidas por priones (BSE, *scrapie*, encefalopatía transmisible del visón (TME), enfermedad debilitante crónica (CWD), etc.) pueden transmitirse entre individuos de la misma especie e incluso al hombre. La posibilidad de transmisión de priones entre distintas especies ha permitido definir el concepto de **barrera interespecífica**.

Las formas **familiares o hereditarias** incluyen el **síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS),** el **insomnio familiar fatal (FFI)** así como el 10 % de los casos de Creuztfeld-Jacob (CJD). Las patologías familiares tienen un carácter autosómico dominante ligado a la presencia de **mutaciones puntuales o insercionales** en el gen que codifica la proteína del prion.

Las formas **esporádicas** surgen en una población sin una causa aparente, las formas hereditarias están vinculadas a la existencia de mutaciones en la línea germinal en el gen que codifica la proteína del prion y las formas adquiridas ocurren por el contacto accidental con material contaminado. Dentro de la patología infecciosa se pueden destacar las formas iatrogénicas adquiridas.

Entre las enfermedades priónicas humanas se incluyen la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (CJD), la enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS), el Insomnio Familiar Fatal (FFI) y el Kuru. Sin embargo, en los últimos años se han descrito una variedad de cuadros clínicos de etiopatogenia priónica que han ampliado el espectro clínico de estas enfermedades: demencia por prion sin patología característica, demencia con paraparesia espástica, demencia talámica, Encefalopatía espongiforme familiar asociada a nueva mutación en el gen PrP, Gliosis subcortical progresiva, enfermedad mental sin signos neurológicos. Asimismo, casos descritos como enfermedad de Alzheimer familiares han sido reexplorados y catalogados de origen priónico.

8.5 EET adquiridas

KURU

El Kuru, descrito en la población de las tribus Fore en Papua, Nueva Guinea, se relacionó con los rituales de canibalismo practicados por aquellas poblaciones. En la actualidad está en claro descenso, una vez abolidos esos hábitos. La enfermedad, de predominio en mujeres jóvenes y niños, se caracteriza por la instauración de un síndrome cerebeloso progresivo con temblor y disartria. La afectación cognoscitiva descrita es moderada, instaurándose en fases avanzadas. La duración de la enfermedad es, por lo general, menor de un año.

8.6 Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica (ECJi)

La ECJi es infrecuente (< 5% de las EET) y se ha descrito en relación con: 1) trasplantes de córnea, injertos de duramadre u otros implantes, 2) consumo de hormona de crecimiento o gonadotrofinas derivadas de hipófisis humanas y 3) exposición a instrumental neuroquirúrgico o electrodos profundos (Brown et al; 2000, Will; 2003; Hamaguchi et al; 2009).

La latencia entre la exposición y el inicio de los síntomas depende en gran medida de la vía de inoculación. En los casos de inoculación directa (instrumental neuroquirúrgico, electrodos profundos), la latencia se estima en meses y el cuadro clínico es similar a una ECJe clásica. En los casos asociados a injertos de duramadre la latencia varía entre varios meses y más de 10 años, y el cuadro clínico puede ser similar a una ECJe o comenzar con síntomas cerebelosos o visuales. En los casos de inoculación periférica, asociados al uso de hormonas hipofisarias, la latencia oscila desde menos de 5 años hasta más de 30 años. El primer caso asociado a hormona de crecimiento se detectó en 1985. Desde entonces solo se emplea hormona recombinante. Hasta la fecha se han producido alrededor de 200 fallecimientos por esta causa, la mayoría de ellos en el Reino Unido, Francia y Estados Unidos. El 94% de los pacientes debutaron con ataxia.

8.7 Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob variante (ECJv)

La ECJv se identificó en 1996 (Will et al; 1996) en el Reino Unido a partir de la detección de una serie de casos de ECJ con características atípicas: 1) pacientes jóvenes, 2) inicio con síntomas psiquiátricos, 3) curso relativamente prolongado, 4) ausencia de complejos periódicos en el EEG y 5) lesiones anatomopatológicas diferentes a las conocidas. Los estudios posteriores han confirmado que se trata de una nueva entidad (Collinge; 1999, Ironside et al, 2002) asociada al consumo de carne de ganado vacuno con EEB (Sigurdson et al; 2003). La EEB se ha relacionado a su vez con la exposición del ganado vacuno a piensos enriquecidos con carne de ovejas afectadas por tembladera (scrapie). Posteriormente se ha detectado la transmisión entre humanos por vía hemática.

Hasta la fecha se han diagnosticado 222 casos de ECJv (EUROCJD; 2010). La mayoría han ocurrido en el Reino Unido, pero se han observado algunos casos en muchos países, incluyendo España (5 casos confirmados hasta julio de 2010). La epidemia de ECJv alcanzó el pico de incidencia en 1999. Desde la entrada en vigor de una serie de medidas dirigidas a evitar el acceso del material contaminado a la cadena alimentaria se ha observado una drástica disminución de la incidencia.

Hasta el año 2009 todos los casos de ECJv se habían producido en homocigotos 129 MM. Por analogía con el kuru y por la presencia de PrPSc en el tejido linfoide de sujetos asintomáticos con los otros genotipos (Frosh et al, 2004) se sospechaba la posible aparición de casos de ECJv en pacientes 129 VV y MV. En esta línea, en un artículo reciente se ha descrito el primer caso de ECJv en un paciente heterocigoto 129 MV (Kaski et al; 2009).

La edad media de inicio de la ECJv es de 29 años, la supervivencia media es de 13 meses (Will et al; 1996, Collinge; 1999, Will; 2003) y la latencia es de 10 a 15 años, excepto en los casos adquiridos por vía hemática, en los que se reduce a 5 a 7 años. La clínica suele comenzar con síntomas psiquiátricos (ansiedad, irritabilidad, disforia, apatía, retraimiento), pero algunos pacientes consultan por síntomas sensitivos o pérdida de memoria. Con el avance de la enfermedad los pacientes pueden desarrollar ideas delirantes o alucinaciones visuales. Al cabo de unos meses la exploración suele mostrar signos neurológicos evidentes, tales como ataxia, deterioro cognitivo, mioclonías, corea o distonía.

La anatomía patológica evidencia una encefalopatía espongiforme con múltiples placas floridas (placas fibrilares rodeadas de un halo de vacuolas), otras placas de PrP y depósitos amorfos pericelulares y perivasculares especialmente prominentes en la capa molecular del cerebelo (Ironside et al; 2002).

        En todos los casos de ECJ, por definición, se identifica vacuolización de la sustancia gris (cambio espongiforme o espongiosis) (figura 3). Las vacuolas observadas en el microscopio óptico son debidas a hinchazón focal de axones y terminaciones neuronales dendríticas asociado a la pérdida de organelas sinápticas y la acumulación de membranas anormales. Aunque la espongiosis predomina en la sustancia gris, puede ser también observada en el neuropilo de la sustancia blanca subcortical o profunda. Dentro del encéfalo, la distribución típica es en el neocórtex cerebral, subiculum del hipocampo, caudado, putamen, tálamo, y la capa molecular de la corteza cerebelosa).



   *Figura 1. Espongiosis en sustancia gris del cerebro en ECJ esporádica*

 8.8  Enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)

La mutación más frecuente, presente en las familias originales, es la P102L (Liberski et al; 2004, Liberski et al; 2004b). Posteriormente se han descrito cuadros similares asociados a otras mutaciones (inserciones de 8 o 9 repeticiones, P105L, A117V, G131V, Q160Stop, H187R, F198S, D202N, Q212P, Q217R). La clínica suele iniciarse en la tercera o cuarta décadas de la vida y se caracteriza por un síndrome atáxico crónico al que se añaden posteriormente las alteraciones cognitivas y los signos piramidales y extrapiramidales. En algunas familias predomina un síndrome parkinsoniano. La exploración puede mostrar una combinación inusual de arreflexia crural y respuestas cutáneo-plantares extensoras. Las mioclonías son infrecuentes. La anatomía patológica se caracteriza por la presencia de abundantes placas amiloideas, incluyendo unas placas multicéntricas propias de esta entidad. Algunas mutaciones asocian ovillos neurofibrilares (F198S, D202N, Q217R) o cuerpos de Lewy (Q212P).

8.9 Insomnio letal familiar (ILf)

El ILf está causado por la mutación D178N-129M (Gambetti et al; 2003, Mead; 2006, Kovács et al; 2005). En el ILf la mutación D178N se localiza en un alelo que codifica metionina en el codón 129, mientras que si dicho alelo codifica valina el cuadro corresponde a una ECJf. Los síntomas suelen iniciarse entre los 40-50 años y la supervivencia media es de 12-16 meses. La clínica incluye insomnio, disautonomía (hipertensión arterial, taquicardia, hiperhidrosis, sialorrea, hipertermia, hiperventilación episódica), alteraciones hormonales (pérdida del ritmo circadiano de las secreciones de melatonina, prolactina y hormona de crecimiento, disminución de la secreción de ACTH y aumento de la secreción de cortisol), ataxia, temblor, mioclonías, alteraciones oculomotoras (limitación de la mirada superior, diplopia, sacadización de los movimientos de persecución), hiperreflexia y deterioro cognitivo. La anatomía patológica muestra pérdida neuronal y gliosis en los núcleos talámicos ventral anterior y dorsomedial.

8.10 LOS PRIONES Y SU BIOLOGÍA

Prion: Proteinaceous infectious particles.

Los priones son los agentes causantes de un grupo de patologías neurodegenerativas letales características de mamíferos, también conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles.



8.11 ¿Cómo puede una proteína expresada normalmente ser también un patógeno transmisible?

          Los priones son proteínas complejas (cadenas de polipéptidos), cuya estructura se conoce mejor cada día; la proteína del prion se conoce como PrP.
          Existen dos isómeros principales de la proteína PrP: la forma celular o no patógena, denominada PrPC, y la forma patógena o forma inductora del scrapie, denominada PrPSc. Tanto PrPC como la búsqueda de la entidad molecular constitutiva de este agente reveló como componente mayoritario, si no único, una proteína: PrPSc, proteína del prion de scrapie, y la ausencia de un ácido nucleico específico (Prusiner 1982, 1991).

Se denomina prion a la forma alterada de una proteína celular funcional (PrPC en mamíferos) que ha podido perder su función normal pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica.

En humanos, la enfermedad se manifiesta como demencia progresiva, mientras que en animales suele manifestarse como ataxias.

Como los virus, los priones pueden perpetuarse y multiplicarse causando enfermedad, pero al contrario que aquellos, los priones NO SON INMUNOGÉNICOS.

Los niveles más altos de PrPC se encuentran en cerebro, particularmente en el hipocampo, existiendo niveles significativos en corazón y músculo esquelético y, más bajos, en la mayoría de los órganos restantes excepto en hígado y en páncreas (Prusiner, 1997).

En las patologías de priones, PrPC se transforma post-tradicionalmente en una isoforma generalmente denominada PrPSc (Prusiner 1991, 1997).

Aunque pueden presentar muchas isoformas, extracción con detergentes de fracciones de membranas de cerebros infectados generan unas varillas de unos 11 nm de diámetro y hasta 165 nm de longitud (de media: rango 25-550).

Los priones resisten intentos de inactivación por nucleasas, UV, agentes queladores, variación de pH, proteasas… Pero sí baja la infectividad con urea, hervir en SDS o autoclave a 132ºC durante más de 2 horas…

PrPC es sensible a la acción de proteasas y PrPSc, por el contrario, sufre una proteolisis limitada generando la forma truncada en el extremo N-terminal que agrega en forma de amiloides y retiene la infectividad. (Prusiner, 1991; Ghetti y cols., 1996).

El prion se une a la proteína PrPC produciendo nuevos priones por cambio de conformación. Al parecer se necesita una proteína-X celular para inducir dicho cambio.

El mecanismo mediante el cual se propagan los priones no se conoce con precisión. Aunque algunos investigadores siguen postulando la necesidad de un ácido nucleico específico de priones, no existen evidencias físicas ni químicas de su existencia. En el caso de existir, cabe esperar que dicha molécula dirija la replicación de priones empleando una estrategia similar a la de los virus.

El proceso de propagación de un prion se inicia con la interacción de la PrPSc exógena con PrPC o con una forma parcialmente desnaturalizada de ésta, PrP\* (Scott y cols., 1989; Kocisko y cols., 1994). El reconocimiento de PrPSc ocurre a través de la región 96-167 Aa, siendo necesaria pero insuficiente la identidad de secuencia.

La infección ocurre a través de un complejo PrPC-PrPSc, cuya formación está gobernada por el grado de identidad de secuencia entre la proteína endógena y la exógena (Scott y cols., 1989; 1993)

1. ¿Cómo se transmite la enfermedad?



1. Signos y síntomas de la enfermedad en animales y en el hombre.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|   | **OVEJAS** | **VACAS** | **HOMBRE** |
| **FASE PSÍQUICA** | Cambios de comportamiento | Aprehensión progresiva | Modificación del comportamiento |
| Cambios de temperamento | Agresividad | Modificación de la personalidad |
| Picor aparente que obliga a rascar y frotar |   | Trastornos de la memoria |
| **FASE ORGÁNICA** | Pérdida de coordinación (ataxia cerebelar) | Descoordinación | Dolores intensos extremidades inferioresPostración |
| Pérdida de peso | Hiperestesia | Demencia |
| Temblores y convulsiones |   | Diestesia |

1. Métodos de análisis:

Para comprender como se confirma la presencia de la enfermedad es imprescindible conocer métodos de diagnóstico.

**11.1 Diagnóstico clínico:**

La confirmación de la EEB no es posible al momento en el animal vivo, sólo puede ser a través del examen post mortem con el análisis histopatológico y bioquímico del cerebro.
La EEB tiene una aparición insidiosa y generalmente es de curso lentamente progresivo. En los bovinos los principales signos clínicos son de índole neurológica, entre ellos aprensión, miedo, sobresaltos excesivos o depresión. Se presenta hiperestesia al tacto y al sonido o hiperreflexia. Existen movimientos anormales tales como fibrilación, temblores mioclonías y ataxia. Los problemas neurovegetativos que se observan incluyen disminución de la ruminación, bradicardia y alteración del ritmo cardíaco.
Se puede presentar prurito como en el Prúrigo Lumbar, aunque este signo no sea el predominante. Hay pérdida de peso y alteración del estado general.
Las vacas afectadas, por ejemplo, pueden ser renuentes a entrar en la sala de ordeñe o pueden patear vigorosamente durante el ordeñe. En las vacas secas especialmente, la incoordinación del miembro pelviano y la debilidad pueden ser las primeras características clínicas a ser detectadas. Los signos clínicos se agravan progresivamente terminando con la muerte del animal.
La EEB, a semejanza de otras EET de los animales y del hombre, se caracteriza por la ausencia de alteraciones anatomopatológicas graves, a la necropsia, ligadas a la enfermedad. Las lesiones propias son microscópicas, están circunscriptas al sistema nervioso central y no son inflamatorias.

**11.2 Diagnóstico diferencial:**

Son diversas las enfermedades que pueden causar signos neurológicos similares y que se deben contemplar como diagnósticos clínicos diferenciales. Entre otras a tener en cuenta: hipomagnesemia, cetosis nerviosa, rabia, listeriosis cerebral y otras encefalitis, polience-falomalacia o necrosis corticoce-rebral, tumores intracraneales, intoxicación con plomo, etc.

**11.3 Diagnóstico de laboratorio:**

El diagnóstico definitivo será dado por el examen post-mortem del tejido nervioso encefálico, único método disponible actualmente. Se debe recordar que no es posible utilizar pruebas serológicas debido a la ausencia de respuesta inmunitaria detectable en la EEB u otras EET.
Se debe utilizar preferentemente el encéfalo entero. La extracción para el examen histopatológico se ha de efectuar cuanto antes después de la muerte del animal.
En cuanto a las pruebas que se pueden utilizar se destacan las siguientes:

11.4 Análisis histopatológicos:

Es la técnica diagnóstica de elección y es la utilizada para validar otros tests. Se realiza con material obtenido post-morten, fijado en formol al 10% en solución salina, coloreado y examinado por microscopía óptica en búsqueda de los cambios microscópicos específicos para EEB y otras EET.
Es posible que casos de EEB, tal como acontece en Scrapie, presenten mínimos cambios por microscopía óptica, en consecuencia se hace necesario implementar pruebas diagnósticas complementarias como la detección de Fibrillas asociadas al Scrapie (SAF), que se realiza en tejido fresco no preservado. Con esta técnica es posible analizar material con cierto grado de descomposición post-mortem.

11.5 Cortes histológicos



Fig. 2 Histopatología de cerebro ovino infectado con Scrapie.



Fig. 3 Histopatología de cerebro bovino infectado con BSE

11.6 Métodos inmunológicos:

La base inmunológica utilizada es la reacción antígeno- anticuerpo entre PrPSc y su anticuerpo específico desarrollado oportunamente. Se han implementado métodos inmunohistoquímicos e inmunoquímicos.

#### 11.6.1 Inmunohistoquímica:

Detecta la PrPSc en preparados histológicos. Es el método elegido cuando hay deterioro y no se perciben las estructuras celulares por fallas en el fijado o por autólisis del tejido. Esta técnica también es de uso en otros tejidos, entre ellos el tercer párpado y las tonsilas en ovejas, posibilitando así los estudios en el animal vivo para Scrapie.



#### 11.6.2 Inmunoblotting:

Permite detectar la PrP modificada resistente a la digestión por proteasas purificada por su peso molecular y detectada por una reacción con anticuerpos anti PrP. En esta técnica se usa material cerebral no fijado, obtenido en el animal muerto, que se puede conservar congelado. Los tipos de inmunoblotting usados son el Dot blot y el Western blot.



11.6.3 Bioensayos:

Se usan métodos biológicos para detectar la infección por EEB utilizando inoculación en ratones por vía intracerebral o intraperitoneal o por ingestión de material cerebral provenientes de bovinos en estadio terminal de la enfermedad. La limitante de este método es el largo período de incubación.

11.6.4 Pruebas rápidas:

Por último se están utilizando los denominados “pruebas rápidas” para su uso en gran escala con pronta respuesta que posibilita su utilización en programas de vigilancia que dependen del contexto epidemiológico del país. Varias de estas pruebas rápidas se encuentran validadas a nivel internacional y son de uso en distintos países. Entre las validadas se mencionan:

11.6.5 Prionics:

Desarrollado por una compañía Suiza, utiliza el Western Blot con anticuerpos monoclonales específicos. Los resultados se obtienen en 24 horas.

1. Métodos utilizados en INTA

Mediante la resolución OIE (Ref.EEV/SL 35.809) se designó al Laboratorio de INTA Castelar como laboratorio de Referencia de OIE para EEB Y Scrapie.

Las muestras son analizadas mediante la utilización de las siguientes metodologías, utilizando los protocolos de diagnóstico de acuerdo con los procedimientos recomendados por la OIE.

1. Evaluación microscópica (histopatología)
2. Evaluación bioquímica
3. Evaluación por inmuhistoquímica

12.1 Evaluación microscópica (histopatología)

Se sigue el protocolo descripto por VLA Weybridge Reino Unido y OIE mediante técnica de inclusión en parafina y tinción con hematoxilina y eosina.

Desde el comienzo de la vigilancia (1992), se analizaron muestras cerebrales colectadas de bovinos, ovinos, caprinos, camélidos (llamas, alpacas, vicuñas), ciervos (ciervo colorado, pudú), visones, gatos y animales salvajes (antílopes y félidos mantenidos en zoológicos).

12.2 Evaluación bioquímica

El laboratorio realiza el diagnóstico bioquímico de las EET mediante la técnica de Western Blot (WB) siguiendo el protocolo tradicional descripto por VLA Weybridge Reino Unido, y luego según modificaciones recomendadas por la OIE y mediante la aplicación de los denominados tésts rápidos, utilizándose entre ellos el prionics Check Westerns, producido por Prionics y Enfer (Abbott).

12.3 Evaluación por inmunohistoquímica

A partir del año 2003, se comenzó a utilizar la técnica de inmunohistoquimica (IHQ) según protocolo Ames lowa, técnica manual , utilizando como anticuerpo primario el Mab 89/160, F99/97 (VMRD, USA) anticuerpo secundario LSAB2 (detection kit, DAKO DK) biotinylated, anti-ratón y anti-conejo lg G streptavidina conjugada y AEC –aminoetilcarbazol- como cromógeno.

12.4 Flujograma

MUESTRA

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA

LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA

|  |  |
| --- | --- |
| RESULTADOS PARCIALES | RESULTADO FINAL |
| LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA | LABORATORIO DE BIOQUÍMICA |
| Rutina (H&E) | IHQ | Wb, Test rápidos (Check Western) |  |
|  |  | Neg | Negativo |
| Neg. |  | Neg | Negativo |
| Neg. | Neg. |  | Negativo |
|  | Neg. |  | Negativo |
| Dudoso | Neg. | Neg. | Negativo |
|  | Neg. |  | Negativo |
|  |  | Neg | Negativo |
|  | Neg. | Dudoso (4) si es Neg | Negativo |

1. Por falta de simetría de la muestra
2. Por falta de áreas anatómicas específicas
3. Por mala conservación de la muestra o fijación
4. Se chequea por Western Tradicional WB OIE

#### 12.5 MUESTRAS RECIBIDAS ENTRE 2011-2016

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **PROVINCIAS** | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | TOTAL |
| **Buenos Aires** | 663 | 729 | 1084 | 975 | 1063 | 330 | 4844 |
| **Ciudad Autónoma de Buenos Aires** | 87 | 30 | 20 | 27 | 1 | 0 | 165 |
| **Catamarca** | 7 | 5 | 4 | 7 | 0 | 0 | 23 |
| **Chaco** | 27 | 35 | 31 | 17 | 22 | 8 | 140 |
| **Chubut** | 8 | 9 | 14 | 13 | 13 | 1 | 58 |
| **Córdoba** | 185 | 303 | 482 | 404 | 436 | 184 | 1994 |
| **Corrientes** | 80 | 62 | 109 | 77 | 74 | 22 | 424 |
| **Entre Ríos** | 61 | 77 | 188 | 195 | 111 | 48 | 680 |
| **Formosa** | 23 | 22 | 31 | 27 | 21 | 1 | 125 |
| **Jujuy** | 2 | 1 | 2 | 19 | 3 | 0 | 27 |
| **La Pampa** | 111 | 99 | 154 | 68 | 134 | 29 | 595 |
| **La Rioja** | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| **Mendoza** | 57 | 2 | 11 | 7 | 6 | 3 | 86 |
| **Misiones** | 8 | 8 | 11 | 17 | 10 | 0 | 54 |
| **Neuquén** | 8 | 1 | 5 | 6 | 4 | 0 | 24 |
| **Río Negro** | 29 | 13 | 10 | 21 | 14 | 1 | 88 |
| **Salta** | 13 | 15 | 30 | 17 | 19 | 0 | 94 |
| **San Juan** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **San Luis** | 23 | 33 | 63 | 55 | 59 | 19 | 252 |
| **Santa Cruz** | 246 | 3 | 3 | 1 | 6 | 2 | 261 |
| **Santa Fe** | 160 | 251 | 473 | 299 | 346 | 174 | 1703 |
| **Santiago del Estero** | 20 | 25 | 47 | 36 | 18 | 6 | 152 |
| **Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur** | 48 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 49 |
| **Tucumán** | 3 | 1 | 3 | 5 | 0 | 0 | 12 |
| **No especificado** | 207 | 353 | 507 | 397 | 151 | 2493 | 4108 |
| **TOTAL** | 2076 | 2080 | 3285 | 2691 | 2511 | 3321 | 15964 |

Entre 1992 y el presente año se analizaron más de 60.000 muestras encefálicas de bovinos, ovinos, caprinos, camélidos (llamas y alpacas), cérvidos, visones, felinos, domésticos y salvajes de zoológico para determinar presencia de lesiones de EET; todos los resultados fueron negativos, las muestras se procesaron en el Laboratorio Nacional de Referencia de las EET (Resolución SENASA N°901/2002) del INTA (Castelar), con los métodos establecidos en el Manual de Normas de la OIE.

* Análisis microscópico de cerebro (MEB)- La totalidad de los cerebros hasta la puesta a punto de las otras técnicas para el diagnóstico en 2002 y 2003.
* Inmunoblotting para PrPsc (IB)- Cerebros de bovinos con signos neurológicos y otros cerebros seleccionados.

En julio de 2002, se inició una prueba piloto con los ensayos rápidos “Prionics Western Check” “Enfer TSE Test”y “Platelia BSE”, convirtiéndose, a partir de ese momento, en una técnica de uso rutinario para el programa.

En 2003, se puso a punto la técnica de IHQ, cuya utilización, en el transcurso de estos años se ha ido incrementando como técnica de rutina en combinación con las otras técnicas inmunoquímicas.

No se halló evidencia de EET en ninguno de los cerebros examinados bajo microscopio.

No se detectó presencia de PrPsc en ninguno de los cerebros analizados por inmunoblot o ensayos rápidos para detección de PrPsc.

1. Inconvenientes al recibir muestras:

Durante todos los años que recibimos muestras de todo el país se presentan diferentes tipos de inconvenientes que suelen obstaculizar el proceso adecuado de análisis. Entre ellos se presentan los siguientes:

* Muestras mal fijadas
* Formol congelado
* Recipiente inadecuado, frascos de tapa angosta (ejemplo: la muestra se fija y luego no puede ser retirada del mismo).
* Muestras Sin formol.
* Mal tomadas o fragmentadas
* En el caso de bioquímica suele ocurrir que no se envíe óbex y por ende no se puede realizar dicha técnica.

Para solucionar estos problemas se realizaron capacitaciones dictadas por profesionales del área de BSE a los lugares de donde provenían las muestras con problemas. Luego de dichas capacitaciones los problemas mermaron pero no en su totalidad, son pocos los casos que no son enviados correctamente, pero aun así se siguen presentando.

Es importante para nosotros recibir las muestras de manera correcta para procesarlas en tiempo y forma.

1. Inconvenientes al realizar la técnica de rutina HyE “Hematoxilina y Eosina”

Durante el periodo en el realizo esta técnica de rutina se presentaron diferentes inconvenientes.

La hematoxilina que estábamos usando hasta el momento era “hematoxilina de Mayer” que se preparaba de la siguiente manera:

HEMATOXILINA (Merk/BDH/Fluka)…………1.0 grs

Iodato de sodio pa……………………………..0.2 grs

Alumbre de potasio pa………………………..50 grs

H20 destilada…………………………………..1000 c.c.

Hidrato de cloral pa………………………..….50.0 grs

Ácido cítrico pa…………………………………1.0 grs

**Preparación:**

**Disolver la hematoxilina en 20 c.c. de alcohol 96%. Tomar una parte de los 1000 c.c. de H20 destilada y disolver el iodato de sodio, otra parte (250 c.c. aprox.) y disolver el alumbre de potasio calentando la solución. Luego disolver el hidrato de cloral en otra parte de H20. Disolver por último el ácido cítrico y mezclar todos los componentes en orden.**

El hidrato de cloral en estado sólido se dejó de comercializar ya que hubo muchos problemas por su mal uso, actualmente sólo se distribuye con prescripción médica para uso pediátrico.

Dado este inconveniente hemos decido cambiar el protocolo de trabajo reemplazando el hidrato de cloral por una perla de timol, y estamos poniendo a punto este nuevo procedimiento.

1. Acciones de prevención en la Argentina

Las estrategias establecidas por el Programa Nacional de Prevención y Vigilancia de las EET de los Animales del SENASA contemplan la implementación de medidas basadas en la prevención del ingreso de los agentes de las EET, prevención del reciclado y amplificación del agente, la vigilancia epidemiológica y un sistema de difusión, capacitación y educación continua, todas ellas tendientes a consolidar y mantener la condición de a Argentina como país de riesgo insignificante y en el que nunca se han detectado casos en animales ni en humanos.

En el marco de las acciones de prevención del ingreso, existe una “Metodología de evaluación de riesgo de introducción de EEB a través de importaciones de animales vivos, su material reproductivo, productos, subproductos y derivados de origen animal y mercancías que los contengan (Resolución Senasa 117/2002 y modificatorias)”, que define su autorización de importación.

15.1 ¿Qué es la OIE?

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE)

La necesidad de combatir contra las enfermedades de los animales a nivel mundial constituyó el motivo por el cual se creó la Oficina Internacional de Epizootias gracias al Acuerdo internacional firmado el 25 de Enero de 1924. En mayo de 2003 la Oficina se convirtió en la Organización Mundial de Sanidad Animal, pero conserva su acrónimo histórico OIE.

La OIE es la organización intergubernamental encargada de mejorar la sanidad animal en el mundo.

La Organización Mundial del Comercio (OMC) ha reconocido las normas dictadas por la OIE, que en 2017 contaba con 181 Países Miembros, como normas de referencia mundial. La OIE mantiene relaciones permanentes con otras 71 organizaciones internacionales y regionales, y dispone de oficinas regionales y sub-regionales en todos los continentes.

15.2 ¿Cómo funciona la organización?

La OIE desempeña su cometido bajo la autoridad y el control de una Asamblea mundial de delegados compuesta de Delegados que designan los Gobiernos de todos los Países Miembros.

El Director General, nombrado por el Asamblea mundial de delegados, dirige las actividades de la OIE en la Sede mundial. Esta sede aplica las resoluciones del Comité, elaboradas con el apoyo de las siguientes Comisiones elegidas por los Delegados:

El Consejo

Comisiones Regionales (5)

Comisiones Especializadas (4)

Los recursos financieros de la OIE provienen fundamentalmente de las contribuciones anuales obligatorias de sus países Miembros. Estos recursos se complementan con contribuciones voluntarias

La EEB forma parte del grupo de encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), que también incluye el prurigo lumbar de los ovinos, la caquexia crónica de los ciervos y alces, y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob que afecta al hombre.

La OIE ha establecido un reconocimiento oficial del estatus sanitario de los países respecto a la encefalopatía espongiforme bovina.

Las normas, directrices y recomendaciones elaboradas por la OIE sobre bases científicas son reconocidas como referencia internacional. Por medio de sus expertos y de su red mundial de Laboratorios de Referencia y de Centros Colaboradores, la OIE facilita asesoría, diseño de estrategias y asistencia técnica para el control y erradicación de la encefalopatía espongiforme bovina.

Las informaciones al respecto están agrupadas en dos categorías:

La primera que presenta el número de casos de EEB en bovinos importados o autóctonos señalados en el Reino Unido y en el mundo (con excepción del Reino Unido) , y los Países/territorios que señalaron casos únicamente en animales importados;

La segunda que presenta la tasa de incidencia anual de la EEB a partir de 1989, por países.

Teniendo en cuenta la situación epidemiológica actual, caracterizada por la marcada disminución de la incidencia anual de la EEB, la notificación obligatoria de los casos de EEB en WAHIS mediante las notificaciones inmediatas e informes semestrales, así como la disponibilidad de estos datos en la interfaz de WAHIS, la OIE decidió dejar actualizar esta página desde el 31 de diciembre de 2016. Esta página contiene sólo la información proporcionada por los Miembros hasta 2016

15.3 Sistema de alerta precoz

Cuando en un País Miembro se presenta un evento epidemiológico importante, dicho País Miembro debe informar a la OIE enviando una Notificación inmediata (animales terrestres y acuáticos), que consiste principalmente en detallar la razón de la notificación, la enfermedad, las especies afectadas, la zona geográfica afectada, las medidas de control aplicadas y los exámenes de laboratorio efectuados o que se están efectuando.

Con el fin de mejorar el alcance y la eficacia del sistema de alerta precoz de la OIE, los Países Miembros deben notificar inmediatamente a la Sede de la OIE aquellos eventos epidemiológicos importantes que correspondan a las razones establecidas en el Código sanitario para los animales terrestres y el Código sanitario para los animales acuáticos (Capítulos 1.1 – Artículos 1.1.3).

Capítulo 1.1 – Artículo 1.1.3 (razones de notificación para los animales terrestres)

Capítulo 1.1 – Artículo 1.1.3 (razones de notificación para los animales acuáticos)

1. Conclusión:

La Argentina tiene un programa de vigilancia y monitoreo continuo para EEB desde 1994, reconocido internacionalmente (Argentina libre de BSE. OIE, Código Zoosanitario Internacional Cap. 2.3.1.3 Año 1998). Unión Europea Nivel de Riesgo I, Año 2000, 2003 y 2005: “País donde es altamente improbable que el ganado domestico se encuentre (pre-clínica o clínicamente) infectando con el agente de la EEB”. OIE 2004: “País provisionalmente libre de BSE”. Artículo 2.3. 13.3 del Código Zoosanitario para Los Animales Terrestres. OIE. 2006: “País libre de BSE”. OIE 2008/09/10/11/12: “país de riego insignificante para BSE”.

El programa basado en el análisis de los factores de riesgo de la enfermedad es actualizado anualmente. Dentro del componente de Vigilancia Epidemiológica, se analiza una cantidad de muestras de cerebros de los distintos subpoblaciones de bovinos, por lo que es altamente improbable que no se detecte un animal que presente signos neurológicos clínicos de EEB con el sistema de vigilancia que opera en la República Argentina. Constantemente vamos mejorando las técnicas de coloración para obtener resultados óptimos.

Asimismo, se supervisa la producción y la importación de alimentos balanceados para los animales, a través del análisis de alimentos e insumos en un programa de muestreo establecido.

El Laboratorio de diagnóstico, que desde 2009 es Laboratorio de Referencia OIE, utiliza métodos de diagnósticos aprobados y su personal está capacitado en los últimos conocimientos científicos disponibles.

El programa de capacitación y concientización brinda los conocimientos necesarios para el reconocimiento de los casos sospechosos de enfermedad nerviosa con signos compatibles con la enfermedad, a los responsables de la alimentación, el bienestar y la sanidad de los animales y alerta sobre posibles riesgos por presencia de una EET en animales de zoológico, visones y ciervos.

Los resultados del programa de prevención y la evidencia patológica indican que no existe EEB en la población bovina de Argentina.

De acuerdo con las recomendaciones de la OMS, Argentina tiene un programa de Vigilancia para las EET en humanos, desde marzo de 1997, coordinado por el CRN para EET en humanos, que es el Centro Colaborador de OMS para la región. Entre 1983 y 2010, se confirmaron 117 casos. No se diagnosticó ninguna otra enfermedad de humanos causada por priones. A la fecha, no se detectaron casos de vCJD.

1. Anexos

### RESOLUCIÓN-901-2002-SENASA - SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

Visto el expediente N° 105/99 y la Resolución N° 1208 del 25 de octubre de 1999, ambos del registro del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, y considerando:

Que es necesario mantener la condición de la República Argentina como país libre de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) y de las demás Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) de los animales, actualizar en forma oportuna el análisis y seguimiento de los factores de riesgo externo e interno respecto de las EET, certificar con máxima precisión la condición sanitaria respecto de las EET en el país y de los productos destinados al mercado interno y a la exportación, y optimizar los sistemas de seguimiento y control establecidos.

Que una de las maneras de alcanzar los objetivos propuestos es a través de la implementación de un Programa Nacional.

Que a efectos de mejorar eficientemente la implementación de las medidas tendientes a lograr el cumplimiento de lo expresado en el considerando anterior, surge la necesidad de ejecutar la supervisión de las actividades de los distintos equipos de trabajo existentes vinculados al tema.

Que el marco de referencia del Programa Nacional que se propicia se define, en función de las características de la enfermedad y de las condiciones de riesgo de la República Argentina respecto de la misma, teniendo en cuenta tanto las evaluaciones realizadas a nivel nacional como internacional, en particular los criterios establecidos en el CODIGO ZOOSANITARIO INTERNACIONAL de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) y la metodología desarrollada por el Comité Científico Director de la Comisión Europea.

Que la República Argentina ha implementado tempranamente medidas de control y prevención de estas enfermedades, manteniendo actualizados, acorde a la evolución de los avances científicos, tanto la legislación vigente de restricciones de importaciones implementadas a partir del año 1990 como los Análisis de Riesgo que demuestran el estatus del país con relación a este grupo de enfermedades.

Que resulta procedente, establecer un Programa Nacional que permita optimizar la ejecución y control de las acciones implementadas, haciendo más eficientes las acciones que correspondan, individualizando las dependencias del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa), encargadas de su ejecución y seguimiento y determinando sistemas de supervisión del sistema implementado.

Que para el cumplimiento de los objetivos propuestos, resulta imprescindible asignar la responsabilidad del Programa Nacional al Coordinador del Grupo de EET creado por Resolución Senasa N° 299 del 10 de agosto de 2001, Doctor Leonardo Oscar MASCITELLI (LPU N° 10.711.025).

Que se ha dado intervención a los miembros de la Comisión Técnica Asesora en EEB de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, creada por Resolución N° 457 del 2 de agosto de 1996 de la ex Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación.

Que corresponde realizar adecuaciones de orden técnico y jurídico en función de la reestructuración técnico administrativa operada en el Servicio.

Que la Dirección de Asuntos Jurídicos ha tomado la intervención que le compete.

Que el suscripto es competente para dictar el presente acto conforme las facultades conferidas por el artículo 8° inciso e) del Decreto N° 1585 del 19 de diciembre de 1996, sustituido por su similar N° 394 del 1° de abril de 2001.

Por ello, el Presidente del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria resuelve:

Artículo 1° — Apruébase el PROGRAMA NACIONAL DE PREVENCION Y VIGILANCIA DE LAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES (EET) de los animales en la República Argentina, que como Anexo forma parte integrante de la presente resolución.

Art. 2° — Las dependencias del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, que por sus funciones son responsables para intervenir en las distintas áreas temáticas, comprendidas en el Programa Nacional aprobado en el artículo precedente, tienen la obligación funcional de ejecutar las acciones previstas en el mismo, quedando facultadas para emitir las disposiciones, establecer los procedimientos necesarios para la ejecución y monitoreo de las actividades y crear los registros que en cada caso correspondan.

Art. 3° — Desígnase al Coordinador del Grupo de Trabajo en Encefalopatías Espongiformes Transmisibles de los Animales creado por Resolución Senasa N° 299 de fecha 10 de agosto de 2001, Doctor Leonardo Oscar MASCITELLI (LPU N° 10.711.025), como Responsable del Programa Nacional aprobado en el artículo 1° de la presente resolución.

Art. 4° — El responsable del Programa Nacional de Prevención y Vigilancia de las EET de los animales está facultado a realizar la supervisión de acciones de evaluación y seguimiento, según la modalidad que se establezca, y a designar al personal específico que desempeñe las tareas antes mencionadas.

Art. 5° — La Coordinación del Programa Nacional, tendrá la responsabilidad de intervenir para garantizar la ejecución de las medidas que se propician debiendo producir informes de seguimiento integral del mismo, teniendo las áreas involucradas, asimismo la obligación de elevar la actualización de las acciones de responsabilidad primaria de su competencia, con la frecuencia que el Programa Nacional así lo requiera.

Art. 6° — Facúltase al responsable del Programa Nacional a incorporar las modificaciones en el Anexo que forma parte integrante de la presente, toda vez que razones técnicas, científicas u operativas lo justifiquen, con acuerdo y comunicación previas a las dependencias funcionales competentes.

Art. 7° — Encomiéndase a la Dirección de Servicios Administrativos y Financieros, dependiente de la Dirección Nacional de Coordinación Técnica, Legal y Administrativa de este Servicio Nacional, a efectuar las previsiones presupuestarias necesarias para atención del Programa Nacional.

Art. 8° — Invítase a los Gobiernos Provinciales y Municipales, a las Universidades y organismos oficiales y privados, así como a las entidades profesionales pertinentes, a sancionar las normas legales que consideren adecuadas y prever la colaboración de las autoridades dependientes de ellos, en la totalidad de los procedimientos en los que resulte de aplicación la presente resolución.

Art. 9° — Déjase sin efecto la Resolución N° 1208 del 25 de octubre de 1999 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

Art. 10. — La presente resolución entrará en vigencia a partir del dia siguiente al de su publicación en el Boletín Oficial.

Art. 11. — Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese. — Bernardo G. Cané.

### CÓDIGO SANITARIO PARA LOS ANIMALES TERRESTRES DE LA OIE Y MANUAL DE DIAGNÓSTICO

Código sanitario para los animales terrestres.- Se actualiza anualmente con el objeto de prevenir la diseminación de enfermedades de los animales y al mismo tiempo facilitar el comercio internacional de animales, sus productos y subproductos. El Código es el documento de referencia utilizado por las autoridades veterinarias, los servicios de importación y exportación, epidemiólogos y todos aquellos involucrados en el comercio internacional.

Los capítulos del Código relevantes para la aplicación del Plan de Emergencia son:

Encefalopatía Espongiforme Bovina; Zonificación y compartimentación; Directrices generales para la vigilancia zoosanitaria; y Vigilancia de la encefalopatía espongiforme bovina. Todos ellos pueden ser consultados en el sitio web de la OIE:

http://www.oie.int/esp/normes/mcode/E\_summry.htm

Manual de estándares para las pruebas diagnósticas y vacunas.- Su propósito es contribuir a la armonización internacional de métodos para la vigilancia y control de las enfermedades de los animales más importantes. Se describen estándares para las pruebas diagnósticas de laboratorio y para la producción y control de productos biológicos de uso veterinario. El Manual se actualiza aproximadamente cada cuatro años.

El capítulo del Manual de consulta para la aplicación del Plan de Emergencia es: Encefalopatía Espongiforme Bovina. Puede ser consultado en el sitio web de la OIE:

<http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/a_index.htm>

1. BIBLIOGRAFÍA:
* [www.infoleg.gov.ar](http://www.infoleg.gov.ar)
* [www.ipcva.com.ar](http://www.ipcva.com.ar)
* [www.oncca.gov.ar](http://www.oncca.gov.ar)
* [www.sagpya.mecon.gov.ar](http://www.sagpya.mecon.gov.ar)
* [www.senasa.gob.ar](http://www.senasa.gob.ar)
* [www.oie.int](http://www.oie.int)
* OIE “Código Sanitario para los Animales Terrestres”
* <http://www.neurowikia.es/>
* [www.svneurologia.org](http://www.svneurologia.org)
* <http://www.eurocjd.ed.ac.uk>
* Código Sanitario para los Animales Terrestres, Ed. 2012, en el capítulo 11.5
* Manual para los Animales Terrestres (Ed. 2012 web), en el Capítulo 2.4.
* Análisis de los factores de riesgo asociados a la EEB en la República Argentina. Dr. Carlos van Gelderen. Coordinador del Proyecto de Prevención de las TSE en la Argentina (IICA- PROSAP) Dr. Alejandro A. Schudel. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Dra. Ximena Melón. Programa Nacional de Prevención y Vigilancia de las EET de los Animales (SENASA) Dr. Javier Blanco Viera. Instituto de Patobiología (INTA) Dr. Emilio León. Instituto de Patobiología - Epidemiología (INTA) Dra. Susana Binotti. Coordinación de Análisis de Productos Alimenticios y Conexos (SENASA) Dra. Ana Lía Taratuto. Centro de Referencia Neuropatológico y de Biología Molecular de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (FLENI) Dr. Ernesto Odriozola. Patología y Toxicología Veterinaria, Diagnóstico Veterinario Especializado (INTA) Dr. Gabriel Pinto. Instituto de Virología (INTA) Dr. Christián Begué. Centro de Referencia Neuropatológico y de Biología Molecular de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (FLENI) Lic. Ana M. Taiana. Consultor responsable del área de capacitación del Proyecto de Prevención de las TSE en la Argentina (IICA-PROSAP) Dr. Alejandro Lucchelli. Consultor técnico (IICA) Dra. Cynthia Tangelson. Asistente en la Coordinación del Proyecto de Prevención de las TSE en la Argentina (IICA-PROSAP) Dra. María Durrieu. Asistente en la Coordinación del Proyecto de Prevención de las TSE en la Argentina (IICA-PROSAP) Dr. Javier Pardo. Asistente en la Coordinación del Proyecto de Prevención de las TSE en la Argentina (IICA-PROSAP).
1. REFERENCIAS

• Cuillé, J. y Chelle, P.L. 1939. Experimental transmission of trembling to the goat. C.R. Seances Acad. Sci. 208, 1058-1060

• Pattison, I.H. 1965. Experiments with scrapie and with special reference to the nature of the agent and the pathology of the disease. En Slow, latent y temperate virus infection. NINDB Monograph 2. Gadjusek, D.C., Gibbs, C.J. Jr., Alper, M.P. (eds). US goverment printing office. Whasington DC, p 249-257

• Pattison, I.H. 1992. A sideway look to the scrapie saga: 1732-1991. En Prion diseases of human y animals. Prusiner, Collinge, Powell y Anderton (eds). Ellis Horwood publishers. England. p 15-22

• Prusiner, S.B. 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 216, 136-144

• Prusiner SB (1991) Science 252,1515-1522

• Stamp, J.T. 1962. Scrapie. A transmissible disease of sheep. Vet. Rec. 74, 357-362

• Dickinson, A.G., Young, G.B., Stamp, J.T. y Renwick, C.C. 1964. A note on the distribution of scrapie in sheep of different ages. Anim. Prod. 6, 375-377

• Wilesmith, J.W., Wells, G.A.H., Cranwell, A.H. y Ryan, J.B.M. 1988. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. Vet. Rec. 123, 638-644

• Brown P, Preece M, Brandel JP, Sato T, McShane L, Zerr I et al. (2000). Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millennium. Neurology. 55(8):1075-81.

• Will RG. (2003). Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. Br Med Bull. 66:255-65.

• Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T et al. (2009). The risk of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease through medical and surgical procedures. Neuropathology. 29(5):625-31.

• Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A et al. (1996). A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. Lancet. 347(9006):921-5.

• Collinge J. (1999). Variant Creutzfeldt-Jakob disease. Lancet. 354(9175):317-23.

• Ironside JW, Head MW, McCardle L, Knight R. (2002). Neuropathology of variant Creutzfeldt-Jakob disease.

• Sigurdson CJ, Miller MW. (2003). Other animal prion diseases. Br Med Bull. 66:199-212

• EUROCJD. The European Creutzfeldt Jakob Disease Surveillance Network. Acceso del 10 de julio de 2010.

• Frosh A, Smith LC, Jackson CJ, Linehan JM, Brandner S, Wadsworth JD, Collinge J. (2004). Analysis of 2000 consecutive UK tonsillectomy specimens for disease-related prion protein. Lancet. 364(9441):1260-2.

• Kaski D, Mead S, Hyare H, Cooper S, Jampana R, Overell J, et al. (2009). Variant CJD in an individual heterozygous for PRNP codon 129. Lancet. 374(9707):2128.

• Liberski PP, Budka H. (2004). Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. I. Human diseases. Folia Neuropathol. 42 Suppl B:120-40.

• Liberski PP, Jaskólski M, Brown P. (2004). Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. II. An effect of GSS mutation on PRP structure. Folia Neuropathol. 42 Suppl B:140-52.

• Gambetti P, Kong Q, Zou W, Parchi P, Chen SG. Sporadic and familial CJD: classification and characterisation. (2003). Br Med Bull. 66:213-39.

• Mead S. (2006). Prion disease genetics. Eur J Hum Genet. 14(3):273-81.

• Kovács GG, Puopolo M, Ladogana A, Pocchiari M, Budka H, van Duijn C et al. (2005). Genetic prion disease: the EUROCJD experience. Hum Genet. 118(2):166-74.

• Ghetti B y cols., (1996) Brain Pathology 6, 127-145

• Scott M y cols (1989). Cell 59, 847-857

• Scott M y cols. (1993). Cell 73, 979-988

Kocisko DA y cols., (1994). Nature 370, 471-474