

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

POR

AUGUSTO JÁCQUEZ FRAIRE

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Abril del 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA

MONOGRAFÍA

POR

AUGUSTO JACQUEZ FRAIRE

ASESOR PRINCIPAL:

M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

COLABORADORES:

M.V.Z. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA

M.V.Z RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO

I.Z. JORGE HORACIO BORUNDA RAMOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA

ANIMAL

M.V.Z RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

ASESOR PRINCIPAL

M.C. JOSÉ DE JESUS QUEZADA AGUIRRE

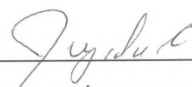
Torreón, Coahuila, México

Abril del 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Presidente del Jurado


M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

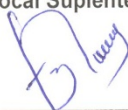
Vocal


M.V.Z. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA

Vocal


M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

Vocal Suplente


I.Z. JORGE HORACIO BORUNDA RAMOS

Torreón, Coahuila, México

Abril del 2012

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
PALABRAS CLAVES.....	1
LA ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES.....	2
HISTORIA DE LA ENFERMEDAD.....	3
ETIOLOGÍA.....	5
CLASIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL.....	6
PRIÓN: AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD.....	7
RESISTENCIA A LA ACCIÓN FÍSICA Y QUÍMICA.....	8
PERIODO DE INCUBACIÓN.....	9
TRANSMISIÓN.....	9
GRADO DE INFECTIVIDAD DE ÓRGANOS Y TEJIDOS.....	11
HUÉSPEDES.....	11
FUENTES DEL AGENTE PATÓGENO.....	12
DISTRIBUCIÓN MUNDIAL.....	12
SIGNOS CLÍNICOS.....	13
LESIONES.....	15
TOPOGRAFÍA DE LAS LESIONES DE EEB.....	16
LESIONES ESPECIFICAS.....	17
DIAGNÓSTICO.....	18
DIAGNÓSTICO EN BASE A LOS SIGNOS CLÍNICOS.....	18
DIAGNÓSTICO EN BASE A LA HISTOPATOLOGÍA.....	19
INMUNOHISTOQUIMICA (IHQ).....	20
PRUEBAS RÁPIDAS.....	20
WESTERN BLOST.....	21
ELISA.....	21
TRANSMISIÓN ANIMAL.....	21

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.....	22
TRATAMIENTO.....	23
PREVENCIÓN.....	23
OBTENCIÓN, EMPAQUE Y ENVIÓ DE MUESTRAS PARA EEB.....	26
PROCEDIMIENTO.....	27
EMPAQUE Y ENVIÓ DE MUESTRAS.....	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

INTRODUCCIÓN

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) es definida como una enfermedad crónica degenerativa y fatal que afecta al sistema nervioso central de los bovinos adultos. También llamada “enfermedad de las vacas locas” debido a sus signos clínicos.

El agente causal ha sido definido mediante la hipótesis científica mas aceptada que se trata de una partícula proteica infecciosa (prion), cuyo tamaño es menor que el de los virus, el agente es altamente resistente a la inactivación de métodos físicos y químicos y puede sobrevivir varios años en el ambiente y en los subproductos de origen animal como las harinas de carne y hueso.

La enfermedad se ha presentado en Europa, Norteamérica y Asia. Existen varios factores clave en la epidemiología de la EEB el grupo de mayor riesgo es el ganado lechero dada su larga vida productiva, según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), las especies susceptibles pertenecen a la familia bovidae; incluyendo en esta a los caprinos, bisontes y búfalos. Los órganos que se consideran infecciosos son el cerebro, la medula espinal, el ganglio trigémico, la raíz del ganglio dorsal, la parte distal del íleon, los ojos y las tonsilas.

México se encuentra libre de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) y Scrapie, se lleva a cabo un programa específico de vigilancia de neuropatías en rumiantes. Esta vigilancia consiste por un lado, a la recolección de muestras de encéfalos de bovinos, ovinos y caprinos que muestren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva) (3).

Palabras claves: prion, tallo, obex, vigilancia, encéfalo, zoonosis.

LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

Definición

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) también conocida como “enfermedad de las vacas locas”, es una enfermedad no febril, crónica, degenerativa y fatal; que afecta al sistema nervioso central de los bovinos.

Pertenece al grupo de enfermedades denominadas Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET), caracterizadas por:

- Ser producidas por la forma patogénica de la proteína priónica (desprovistas de ácido nucleico).
- Presentar prolongados períodos de incubación (meses o años previo al inicio de signos clínicos).
- Ser de evolución lenta, progresiva y mortal.
- Producir degeneración del sistema nervioso central.
- Ausencia de lesiones macroscópicas.
- Causar un proceso de vacuolización en el tejido cerebral, que a la observación microscópica se aprecia en forma de esponja.
- No existir respuesta inmune.

Encefalopatías espongiformes transmisibles

Entre estas enfermedades se encuentran clasificadas:

- Scrapie (ovinos y caprinos).

- Encefalopatía Transmisibile del Visión.
- Enfermedad Crónica Desgastante de los Cérvidos (ciervos y alces).
- Encefalopatía Espongiforme Felina.
- Encefalopatía Espongiforme Bovina.

En los humanos, se han podido identificar las siguientes EET:

- Kuru.
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD).
- Variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD).
- Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS).
- Insomnio Fatal Familiar (FFI). (19)

HISTORIA DE LA ENFERMEDAD

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.

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 (vCJD) cuyo agente transmisible parece ser indistinguible del de la BSE. (1)

La enfermedad en humanos—la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (vECJ)—se asocia a la EEB y ha habido numerosos casos definitivos o probables a causa de vECJ.

En 1994 se presentaron en la Gran Bretaña los primeros casos de vECJ en adolescentes y adultos jóvenes (en la forma clásica, los casos se presentan en adultos mayores de 55 años). El surgimiento de casos de vECJ en una zona geográfica restringida (principalmente Reino Unido), en la que simultáneamente ocurría la epidemia de EEB, fue lo que hizo pensar que la EEB cruzó la barrera interespecie y que fue transmitida a humanos por carne de vaca contaminada.

Para el mes de enero del 2011, doce países habían registrado 222 casos de la vECJ. Reino Unido es el principal país afectado con 171 de casos primarios y 3 por transfusión sanguínea, seguido de Francia, con 25; España (5), Irlanda (4), Estados Unidos (3), Países Bajos (3), Portugal (2), Italia (2), Canadá (1), Arabia Saudita (1), Japón (1) y Taiwán (1).

A pesar de las diversas teorías, la clave es que el agente productor provino de las harinas de carne y hueso, por lo que fue el punto a controlar y a tener en cuenta. Más de 200,000 animales murieron en 1984 por la enfermedad, y se empezó a pensar en la posibilidad de que ésta afectara a los humanos. Para 1996 se describe una nueva enfermedad humana, "La variante de Creutzfeldt-Jakob" una EE que presentaba lesiones muy parecidas a las que se producían en el encéfalo de la vaca y en la oveja pero con una clínica diferente. En 1998 se comprobó que la BSE era la causa y se demostró que el agente etiológico es el mismo, en las vacas y en el humano. La vía de contaminación fue el material específico de riesgo (MER) sistema nervioso central, vaso, etc. zonas del encéfalo que los humanos habían consumido. (2)

ETIOLOGIA

La enfermedad es producida por una partícula infecciosa de naturaleza proteica denominada "prión", carente de ADN, muy resistente al calor, a los rayos ultravioleta, a la radiación ionizante y a los desinfectantes químicos que habitualmente inactivan los virus. El agente no causa reacciones inflamatorias o inmunitarias identificables. (19)

Por su sinología clínica, características de propagación y transmisibilidad, se ha sugerido que es causada por un agente transmisible no convencional, al cual se le ha denominado Prión, para así expresar que se trata de una proteína infecciosa. Esta proteína Prión es similar a la que provoca el Prurigo Lumbar (Scrapie) en ovinos y caprinos, enfermedad que ha estado presente en forma endémica en Inglaterra por más de dos siglos, y presente también en muchos países del mundo. El Prión es altamente resistente a tratamientos físico-químicos tales como: calor, ionización, radiación ultravioleta, así como también ha muchos desinfectantes que habitualmente inactivan los virus. (5)

CLASIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL

Agente transmisible no convencional, muy similar al que causa el prurigo lumbar de los ovinos y caprinos. Se le atribuyó el término hipotético de "prión" para designar una proteína infecciosa, en la medida en que la única macromolécula detectable vinculada a la infecciosidad es una isoforma parcialmente resistente a la proteasa de una proteína normal del huésped, PrP.(6)

¿Que es un prion? Los priones se han definido como “pequeñas partículas proteínicas infecciosas las cuales son resistentes a la inactivación por procedimientos que modifican los ácidos nucleicos”. Los priones se forman a partir de una proteína proteasa-resistente anormal o PrPres. Estos priones solo se han conseguido en el cerebro, columna vertebral y retina de ganado infectado. La acumulación de PrPres en células cerebrales, alterará la función de las células y eventualmente las matará. Las enfermedades causadas por los priones se llaman corrientemente encefalopatía espongiiforme debido a la apariencia histopatológica *postmortem* del cerebro el cual contiene grandes vacuolas (apariencia semejante a una esponja) en la corteza cerebral y cerebelo. Ejemplos específicos incluyen:

- **Scrapie ó Picor** (también llamado rida o cordero temblón): oveja
- **EDC:** (enfermedad degenerativa crónica): ciervo mula, alce
- **EMT:** (encefalopatía contagiosa, o prurito del visón): visón
- **EEB:** (encefalopatía espongiiforme bovina): ganado vacuno (7)

PRIÓN: AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD

- EEB =>Glicoproteína PrPSc.
- Cuenta con una estructura primaria idéntica a la PrPC, con la misma secuencia de aminoácidos, pero con diferente conformación.
- Es insoluble y resistente a proteasas.
- No se le ha detectado la presencia de ácidos nucleicos a pesar de que es capaz de replicarse.
- Promueve la conversión de la PrPC mediante un proceso auto-catalítico.
- La conversión se da en las neuronas provocando daño al tejido nervioso.
- Se acumulan de forma progresiva en el SNC formando estructuras amiloideas lo que causa una disfunción neurológica y la muerte.
- Es resistente a tratamientos físicos (calor, luz ultravioleta y radiación ionizante).
- Es estable en una amplia gama de pH.
- Sobrevive en tejidos cadavéricos.

Los priones están compuestos principalmente o en su totalidad por una isoforma anormal de una proteína celular normal. Esta proteína priónica celular o PrPc (41) está presente en distintos tejidos, como las fibras musculares, los linfocitos, pero particularmente es abundante en el tejido nervioso. En los sujetos enfermos se observa la presencia de una isoforma anormal, llamada “scrapie prion protein” (PrPSc) o “BSE prion protein” (PrPBSE), según sea el caso. Esta proteína anormal proviene de la modificación de la proteína normal o PrPc. Las dos proteínas, la isoforma aberrante y la normal. Difieren en su estructura espacial, pero también en su distinta resistencia al ataque por las enzimas digestivas; mientras la PrPc es digerida, la PrPsc/PrPBSE no se ve afectada por los jugos digestivos.

De acuerdo con la hipótesis del prión, una infección comienza con la ingestión o la inoculación de la isoforma aberrante, PrP*, la cual promueve la conversión de la proteína normal, PrPc, en proteína anormal, PrPsc. La recién formada proteína anormal produce la conversión de más proteína normal, en la isoforma aberrante, disparando una reacción en cadena con acumulación de PrPsc. (6)

RESISTENCIA A LA ACCIÓN FÍSICA Y QUÍMICA

Temperatura: Preservado por refrigeración y congelación. Método de inactivación física recomendado: pasada en autoclave para materiales porosos (porous-load autoclaving) a 134-138°C durante 18 minutos (a esta temperatura la inactivación es a veces incompleta).

pH: Estable en una amplia gama de pH.

Desinfectantes: Hipoclorito de sodio que contenga 2% de cloro disponible o hidróxido de sodio 2 N, aplicado durante más de una hora a 20°C, para las superficies, o durante una noche para el material.

Resistencia: Las medidas de descontaminación recomendadas reducen los títulos pero pueden resultar parcialmente ineficaces si el material tiene un título infeccioso elevado, o si el agente infeccioso está protegido por materias orgánicas secas, o bien se encuentra en un tejido conservado por fijadores aldehídicos. El agente infeccioso sobrevive en los tejidos cadavéricos después de numerosos tratamientos en el matadero. El poder infeccioso del agente del prurigo lumbar adaptado al hámster puede sobrevivir en el suelo durante 3 años, y durante una hora en condiciones de calor seco, a temperaturas que alcanzan los 360°C.(4)

PERIODO DE INCUBACION

La EEB se manifiesta en bovinos de ambos sexos y adultos, ya que el periodo de incubación es largo, típicamente de 4 a 5 años.

El desarrollo de la enfermedad es lento los periodos de incubación, con ausencia total de síntomas, son extremadamente largo (2-10 años dependiendo de la especie y de los individuos) y que en casos humanos pueden pasar hasta 40 años. (5)

TRANSMISIÓN

El prión se transmite cuando los bovinos consumen alimentos que contienen harinas de carne y hueso, elaboradas con tejidos procedentes de rumiantes infectados; sin que haya evidencia de que se transmita horizontalmente por contacto directo, y la transmisión vertical de madres infectadas a sus crías, no tiene significancia epidemiológica. (19)

El porqué se desarrolla la epidemia de la EE sigue siendo una incógnita en la actualidad. Algunas teorías señalan que se trata de una adaptación del agente infeccioso del scrapie del ganado ovino al vacuno y están soportadas porque a partir del laboratorio se ha comprobado que grandes dosis de priones inoculados a ratones pueden producir la enfermedad. Ésta teoría supone aceptar que la proteína sufre modificaciones y traspasa las barreras inter específicas. Ello justificaría una posible transmisión al hombre. En los años 80 se realizaron cambios en los sistemas de tratamiento de harinas de origen animal que ayuda a corroborar esta hipótesis.

Sin embargo las altas dosis de priones que se necesitan para reproducir experimentalmente la enfermedad no son las que de forma natural consumirían los animales o personas, es por ello por lo que otras teorías más tradicionales suponen la existencia de agente infeccioso propiamente bovino, con origen en una enfermedad rara y esporádica que sería identificado bajo una forma epidemiológica.

La EEB tiene un relativamente alto rango de hospedadores, así de forma natural se ha comprobado que es transmisible al gato común y animales de zoo, tales como félidos y diversos antílopes. La caracterización del agente infeccioso se realizó inoculando fragmentos de tejido nervioso de estos animales a ratones, lo que mostraba resultados similares a los obtenidos a partir de la inoculación de muestras de bovinos con EEB. Estos resultados sugieren que la ruta más probable de infección en estos animales sería la oral, por consumo de harinas o piensos realizados con bovinos infectados.

De forma experimental se ha visto que se transmite a animales domésticos y a animales de laboratorio. La transmisión horizontal de bovinos o vertical no ha podido ser demostrada hasta el momento, puesto que los resultados no han sido concluyentes. (8)

La EEB es provocada por la ingestión de alimentos que contengan harinas de carne y huesos contaminadas.

Hasta el momento no se ha registrado ningún caso debido a transmisión iatrogénica, aunque se trate de una vía posible. Existe riesgo de transmisión materna para terneros nacidos de madres afectadas (9% de probabilidad). No existen pruebas de transmisión horizontal entre bovinos.

La aparición de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt Jacob parece indicar la posibilidad de una transmisión al ser humano por vía oral. (9)

GRADO DE INFECTIVIDAD DE ÓRGANOS Y TEJIDOS

ALTA	Cerebro, ojo, médula espinal
MEDIA	Ileon, colon proximal, placenta, ganglios, amígdalas bazo, glándulas pituitaria y adrenal, líquido cefalorraquídeo
BAJA	Colon distal, médula ósea, hígado, pulmón, páncreas
MUY BAJA	Sangre, saliva, leche, orina, piel, testículo, músculo esquelético, hueso, corazón, cartílago.

(12)

HUÉSPEDES

Bovinos domésticos, ñalas [*Tragelaphus angasi*], cudúes mayores [*Tragelaphus strepsiceros*] y presunto origen similar para los casos observados en órices del Cabo [*Oryx gazella*], órices de Arabia [*Oryx leucoryx*], elanes del Cabo [*Taurotragus oryx*], órices blancos [*Oryx dammah*] y bisontes [*Bison bison*]). (11)

En condiciones naturales, la EEB afecta a todas las razas de bovinos lecheros y productores de carne, aunque se presente mayor frecuencia en ganado productor de leche, debido a las prácticas de alimentación con concentrados elaborados a base de restos de rumiantes infectados con Scrapie, situación que es menos frecuente en bovinos productores de carne. (10)

FUENTES DEL AGENTE PATÓGENO

Sistema nervioso central (comprendidos los ojos) de los animales clínicamente afectados (infección natural). Se sospecha que la infecciosidad detectada en el íleon distal en bovinos experimentalmente infectados está vinculada a los tejidos linforreticulares. (11)

DISTRIBUCIÓN MUNDIAL

La EEB fue diagnosticada por primera vez en ganado bovino en el Reino Unido en 1986. En 1989 se identificaron los primeros casos en ganado vivo fuera del Reino Unido, en las Islas Malvinas y en Omán, en bovinos que habían sido importados desde el propio Reino Unido.

En 1989, Irlanda reportó el primer caso nativo fuera del Reino Unido y en 1990, Suiza reporta el primer caso nativo en Europa Continental.

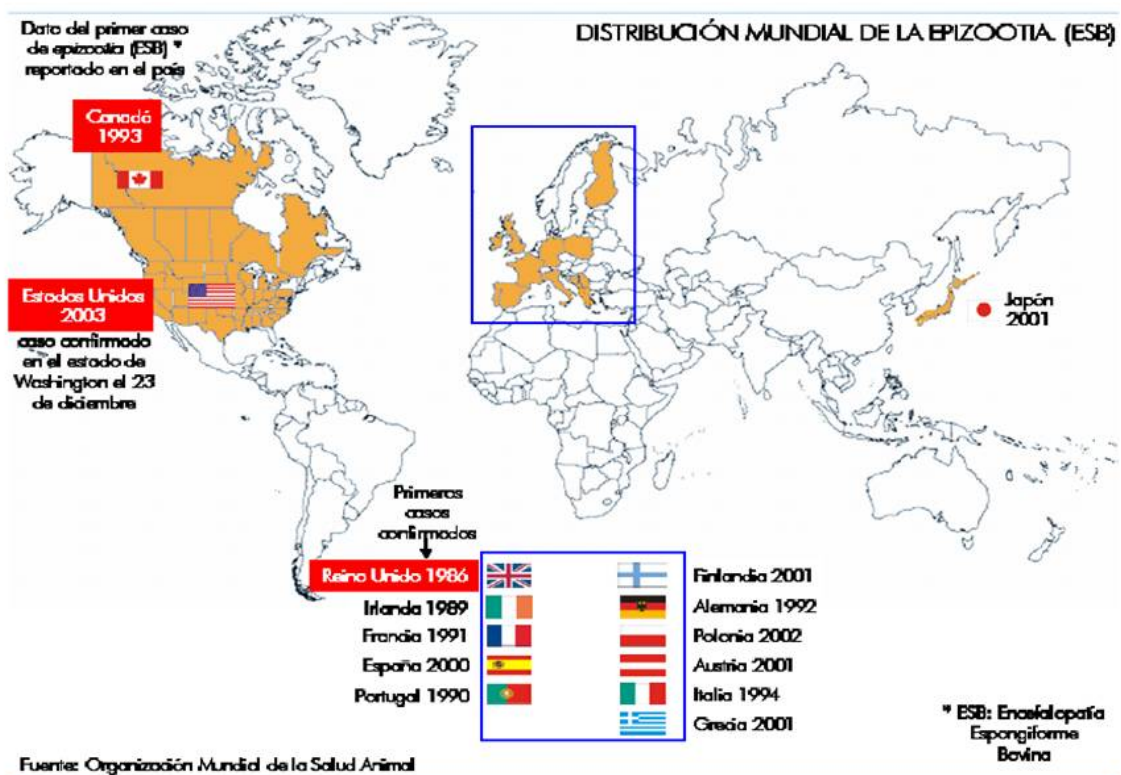
La EEB desde su aparición se diseminó progresivamente a otros 20 países europeos, debido a las harinas exportadas por Inglaterra, o bien a través de la importación de animales vivos infectados los que se integraron a las cadenas alimenticias nacionales.

Hasta el año 2001 la EEB se identificaron casos de la enfermedad en Japón en el 2001, y en Israel en 2002.

El 2003 generó un cambio significativo en la distribución geográfica de la enfermedad, ahora en el Continente Americano, con la aparición del primer

caso en Canadá en mayo de ese mismo año, y en Estados Unidos de Norteamérica, en forma nativa el año 2005, los que han ido reportando nuevos casos con un total para Canadá de 8 casos y para Estados Unidos de Norteamérica 2 casos nativos.

Hasta el mes de enero del 2011, se han notificado más de 190 500 casos de EEB en 26 países. (13)



(13)

SIGNOS CLÍNICOS

La EEB desarrolla cambios tanto en el comportamiento del animal, como en aspectos locomotores y sensoriales relacionados con la afectación del sistema nervioso central.

Los bovinos afectados se ven nerviosos, temblorosos, tambaleantes, aprehensivos y con cambios de comportamiento, de ahí el nombre de “vacas locas”. El comportamiento nervioso se observa en la mayoría del ganado afectado y se interpreta cuando el animal se aísla del resto del rebaño, se resiste a entrar a la sala de ordeño y a ser ordeñado. Los primeros signos locomotores son pequeños cambios en los movimientos de los cuartos traseros y dificultad a la hora de incorporarse a partir de una posición normal, que puede confundirse con hipomagnesemia y cetosis nerviosa. Los cambios locomotores se traducen por caminar tambaleante, zancadas cortas y torpeza en el momento de girar.

Los principales signos neurológicos de la EEB consisten en aprensión (temor o nerviosismo), ataxia (incoordinación al andar) e hiperestesia (sensibilidad excesiva y dolorosa). Los animales con cualquiera o con una combinación de estos signos durante más de un mes, deben ser considerados como casos sospechosos de EEB. Podemos encontrar además salivación excesiva, disminución de la rumia acompañada con bradicardia (disminución de la frecuencia cardíaca) y arritmia (irregularidad y desigualdad en el ritmo cardíaco), así como trismus (rechinar de dientes). (19)

Hay cambios en la condición mental del bovino, en la locomoción y en las percepciones del animal. Hay aprensión, hiperestesia y ataxia en el 97% de los casos. Se presenta frenesí, temores musculares, caídas, posición anormal de la cabeza y agresividad. Hay menor producción láctea, menor condición corporal en presencia de buen apetito, exoftalmos, lagrimeo, salivación, lamido de objetos y muerte. (14)

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 patología de la BSE es muy parecida a la del scrapie de la oveja; los cambios más notorios

consisten en astrogliosis, vacuolización intracelular, pérdida de neuronas y formación de placas amiloides ocasionales.

LESIONES

Lesiones microscópicas: el examen histopatológico del SNC ocupa un lugar preponderante en el diagnóstico de la EEB.

El grupo de las encefalopatías espongiformes transmisibles, entre las que se encuentra la EEB, la cual se caracteriza por la bastante homogeneidad en las lesiones. Están dominadas por un elemento constante: degeneración vacuolar de las neuronas. Otro tipo de lesiones varían en función de una u otra enfermedad.

Vacuolización del neuropil: igualmente denominada espongiosis, es una lesión caracterizada por la presencia de vacuolas, muchas veces múltiples, circulares, de contornos regulares, localizadas en el neuropil.

Cuando la vacuolización es muy marcada, el territorio lesionado toma realmente un aspecto esponjoso.

La vacuolización del neuropil, muy rara en ovinos con scrapie, es una lesión constante en el ganado vacuno con EEB.

Otras lesiones:

- Lesiones neuronales, algunas lesiones presentan imágenes de necrosis neuronal solitaria.
- Lesiones de la glia: gliosis (proliferación de células gliales), puede acompañar las lesiones degenerativas de las neuronas.

Es de destacar que las encefalopatías espongiiformes no se acompañan de lesiones inflamatorias: no aparece encefalitis. (16)

TOPOGRAFÍA DE LAS LESIONES DE EEB

Las lesiones de las EE están limitadas a la sustancia gris del SNC. Su localización anatómica concierne esencialmente a núcleos del tronco del encéfalo, también se puede hallar en la sustancia gris de la médula espinal, corteza cerebral o cerebelo.

En el bovino, las lesiones se localizan principalmente en el tronco del encéfalo, particularmente en la protuberancia anular y bulbo raquídeo. También puede afectar anteriormente al mesencéfalo y posteriormente a la médula espinal.

Sus localizaciones esenciales son:

- En el mesencéfalo: el colliculus anterior, la sustancia gris central, la formación reticular, la sustancia negra y el núcleo rojo.
- En el puente de metencéfalo: el núcleo vestibular superior, lateral y media, el tracto del nervio trigémino, el núcleo del nervio facial y la formación reticular.
- En el bulbo: el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del nervio vago, el tracto del nervio trigémino, la formación reticular y el núcleo de oliva.
- En la médula espinal: las astas dorsal y ventral.

En la mayor parte de los casos, las lesiones son simétricas, contrariamente a lo que ocurre en scrapie del ovino en el que las lesiones son generalmente asimétricas.

No parece existir correlación absoluta entre gravedad de los síntomas y la severidad de las lesiones.

Lesiones Específicas: las lesiones histológicas de la EEB pueden ser consideradas como muy específicas, con dos restricciones muy importantes:

La principal es la autólisis, que en el tejido nervioso se acompaña de formación de vacuolas como artefactos. Estas vacuolas tienen contornos irregulares, que pueden identificarse relativamente fácil, pero el problema radica en que puede enmascarar las verdaderas lesiones de la EEB, sobre todo si son discretas y están confinadas al neuropil.

Estos artefactos pueden verse incrementados sobre todo si el protocolo de inclusión está mal adaptado y las muestras permanecen demasiado tiempo en alcohol al 70%.

La segunda restricción se debe a que en bovinos normales y viejos es posible encontrar grandes vacuolas en el pericardio del núcleo rojo y núcleo oculomotor.

La finalidad del método histopatológico para el diagnóstico de la EEB depende del respeto a ciertas reglas simples para la toma de muestras, fijación y tratamiento de laboratorio. (16)

DIAGNOSTICO

La única forma de diagnosticar EEB en animales vivos es mediante los signos clínicos. Los signos clínicos de la EEB son lo suficientemente distintivos como para conducir a la sospecha de la enfermedad, particularmente cuando los diagnósticos diferenciales son eliminados. Hasta el momento no existe una prueba de diagnóstico para el agente de la EEB en animales vivos. Los métodos de diagnóstico actuales son la histopatología, detección del prión infeccioso PrP^{sc} y la transmisión animal.

DIAGNÓSTICO EN BASE A LOS SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos más importantes de la EEB son la hipersensibilidad como respuesta a la manipulación de la cabeza y cuello y alteraciones en el comportamiento y la locomoción. Los procedimientos de diagnóstico incluyen una acuciosa examinación clínica y neurológica, con énfasis en la evaluación del comportamiento, locomoción y sensibilidad. La correlación entre el diagnóstico clínico y el diagnóstico neurohistológico en la EEB puede, con la experiencia adecuada, ser mayor al 90%.

Parámetro	Reacción Anormal
1 Comportamiento	Estado de pánico, ansiedad, nerviosismo, temor, agresividad, patadas, salivación, bruxismo, nariz-labios fruncidos, bramidos, se lame el hocico, temblores
2 Locomoción	
a) Al guiarlo sobre el canal estercolar	Vacilante para cruzar, rehuye cruzar, salta, inicialmente duda luego salta sobre el.
b) Al guiarlo a través de la entrada al establo	Vacilante, rehuye pasar a través de la entrada, salta hasta la entrada; inicialmente duda pero luego salta a través de ella.
c) Al guiarlo hacia afuera	Se apoya sobre los corvejones, se sofoca, se tambalea, ataxia, paso hipermétrico, eleva en exceso el paso de los miembros posteriores. Pérdida de equilibrio craneal, caudal o generalizado.
d) Libre en la pastura	Ver al guiarlo hacia afuera
3 Sensibilidad	
a) Manipulación manual de cabeza y cuello con un lapicero	Echa la cabeza hacia los lados, nariz-labios fruncidos, salivación, bruxismo, se lame el hocico Ver manipulación con las manos
b) Reacción frente al sonido (al aplaudir)	Salta, se sobresalta con facilidad, se desespera por liberarse si es atado, colapsa
c) Reacción frente a estímulos de luz (prender una luz suave en un cuarto oscuro o usar el flash de una cámara fotográfica)	Ver reacción frente al sonido
d) Prueba de la Escoba (tocar los posteriores con una escoba)	Patea

DIAGNÓSTICO EN BASE A LA HISTOPATOLOGÍA

La EEB debe ser confirmada por examen histológico del tejido cerebral. Los cambios degenerativos simétricos se observan en la materia gris del tallo cerebral. Estos cambios se caracterizan por vacuolación o microcavitación de las células en los núcleos del tallo cerebral (18).

Para confirmar el diagnóstico de EEB es necesario realizar un examen histológico con tinción hematoxilina eosina (HE, su sigla en inglés) en la región del obex cerebral (médula oblonga). Solamente se han descrito lesiones en el sistema nervioso central. El examen histopatológico también puede proporcionar un diagnóstico en casos clínicamente sospechosos en los cuales los signos específicos de la EEB no son detectados. La lesión patognomónica es una alteración espongiiforme en la materia gris, neuropil y vacuolización neuronal de núcleos del pedúnculo cerebral determinados.

INMUNOHISTOQUIMICA (IHQ)

La prueba IHQ es considerada confirmatoria y de referencia. Esta se basa en la demostración de sustancias antigénicas en tejidos o células, mediante una reacción antígeno-anticuerpo unida a moléculas marcadas. La acumulación anormal de PrP^{Sc} en el SNC es la principal alteración de las EETs. La técnica IHQ se basa en la detección de del prión patógeno (PrP^{Sc}) utilizando su característica de ser resistente a las proteasas. Una vez tratado el material con la enzima proteolítica, el PrP^{Sc} es marcado con anticuerpos monoclonales anti-prion, visualizándose una reacción antígeno-anticuerpo a través de la coloración histoquímica. La IHQ es más sensible que la histología y puede realizarse aún en muestras parcialmente autolizadas.

PRUEBAS RÁPIDAS

Actualmente se dispone de métodos de inmunodiagnósticos (Western Blot y ELISA), los cuales se basan en el uso de anticuerpos anti PrP y la propiedad inherente de resistencia a la digestión con proteasas de la isoforma patógena de la PrP (PrP^{Sc})

Aunque estos métodos tienen una especificidad cercana al 100%, la sensibilidad no es suficiente para asegurar un resultado negativo en fases premortem de la enfermedad.

WESTERN BLOT

Basado en la detección de la presencia de la PrP^{Sc} resistente a las proteasas. La proteína PrP^{Sc} resistente es captada por una membrana y marcada con anticuerpos monoclonales que distinguen entre las proteínas bovinas, ovinas y humanas. La resistencia enzimática se detecta en una primera etapa, destruyendo las PrP normales. La reacción inmunológica se identifica frente a los anticuerpos específicos por la observación de un fragmento menor por electroforesis. Esta prueba se utiliza actualmente como prueba de screening en países europeos, siendo luego confirmado por IHQ e histopatología.

ELISA

La técnica, permite la detección de la PrP^{Sc}, luego de la digestión enzimática de las muestras. La proteína resistente es detectada por anticuerpos específicos conjugados con una enzima. Si la muestra es positiva se detecta por una reacción luminiscente que puede ser cuantificada.

TRANSMISIÓN ANIMAL

Un método de diagnóstico alternativo es la utilización de ratones transgénicos en bioensayos de infección, es decir, utilizar ratones transgénicos que expresen la proteína PrP^C de la especie a analizar. Estos animales se inocularían con tejidos o fluidos de infecciosidad desconocida. Sólo en el caso

de que el tejido o fluido viniera de un individuo enfermo y por tanto con priones, desarrollaría la enfermedad.

La ventaja de este método es la sensibilidad. La ausencia de la enfermedad después de la inoculación de la muestra a analizar, garantizaría la inocuidad de la muestra. Esta sensibilidad permitiría detectar infecciosidad en individuos incluso en fase preclínica.

La desventaja de los bioensayos es el tiempo, dado que el tiempo de espera oscila entre 150-350 días. Sin embargo, es probable que estos bioensayos se implantarán como único método para garantizar la ausencia de priones en las muestras donde el tiempo no es un factor determinante.

Por otro lado, dado el impacto económico y social de esta enfermedad, es necesario contar con métodos de diagnóstico rápidos y más sensibles que permitan controlar estos agentes patógenos antes de que puedan representar un riesgo para la salud humana. (17)

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, poliencefalomalacia o necrosis corticocefal, tumores intracraneales, intoxicación con plomo, etc.

TRATAMIENTO

No existen posibilidades terapéuticas en la EEB, procediéndose al aislamiento y sacrificio de los animales.

PREVENCION

La estrategia de lucha contra la encefalopatía espongiforme bovina comprende los sistemas de detección y alerta temprana y el establecimiento de medidas y mecanismos de prevención y respuesta rápida:

- vigilancia específica de los casos de enfermedad clínica neurológica;
- programas de concienciación para mejorar la vigilancia;
- ensayos de cribado durante el sacrificio de rutina;
- transparencia en la notificación de casos de encefalopatía espongiforme bovina;
- medidas de protección para la importación de rumiantes vivos y de sus productos, conforme al Código Terrestre de la OIE;
- extracción del material específico de riesgo (MER: en particular cerebro y columna vertebral) durante el sacrificio y ulterior procesado de las canales;
- prohibición del uso del material MER en los piensos animales, a fin de excluir de la cadena alimentaria el material eventualmente contaminado;
- sacrificio en condiciones decentes de todos los animales sospechosos y

susceptibles que han sido expuestos a los piensos contaminados (cohortes) y eliminación adecuada de las canales y de todos los productos derivados;

- identificación del ganado para posibilitar la vigilancia y rastreo eficaces del ganado sospechoso. (22)

La EEB de origen exógeno puede ser prevenida implementando regulación a las importaciones que prohibía la entrada de rumiantes vivos o subproductos de rumiantes (especialmente carne, harina de carne y vísceras).

Las medidas de control con las que ha disminuido la incidencia de la EEB en el Reino Unido son las siguientes:

- En 1988 se prohibió la utilización de cadáveres en bovinos.
- En 1989 se prohibió la utilización del encéfalo, médula espinal, tonsilas, timo, bazo e intestino de origen bovino en la alimentación de humanos y bovinos.
- En todos los países afectados cada 6 meses los bovinos son examinados buscando signos de EEB (21)

Para prevenir la entrada de EEB, del exterior de los EE.UU. se han restringido la importación de rumiantes procedentes de países afectados. También se incluyen: suero fetal de bovino, harina de suero de carne y sangre, menudos, tripas, grasas y granuladas, excepto para propósitos de investigación; tampoco se pueden importar colágeno y derivados, líquidos amnióticos o extractos, líquidos placentarios, albumina sérica y calostro sérico, solo con permisos especiales, cuando se va a usar como ingredientes en cosméticos; no se importarán alimentos para mascotas que contengan productos en rumiantes.

No se ha hecho importaciones de este tipo del Reino Unido a los EE.UU. desde 1985.

Las restricciones de los EE.UU. para la información de carne de res, procedente de Reino Unido son las siguientes:

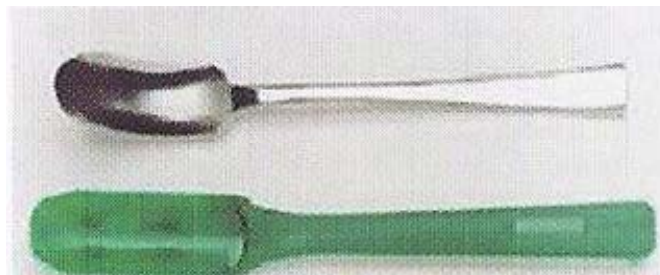
- Bovinos inspeccionados postmortem.
- Deben haber nacido de dar la prohibición de dar a los rumiantes alimentos con proteínas de rumiantes.
- La carne de bovino debe de ser deshuesada.
- Se deben retirar los nódulos linfáticos y tejidos nerviosos visibles. (10)

México se encuentra libre de EEB y Scrapie, lleva a cabo un programa específico de vigilancia de neuropatías en rumiantes. Esta vigilancia consiste por un lado de la recolección de muestras de encéfalos de bovinos, caprinos y ovinos que muestren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva). En estos casos se hace el diagnóstico diferencial particularmente con rabia (por considerarse una enfermedad enzootica en nuestro país) las muestras que resulten negativas por inmunofluorescencia a rabia, se analizarán por histopatología para diagnóstico de EEB o Scrapie. (3)

OBTENCIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

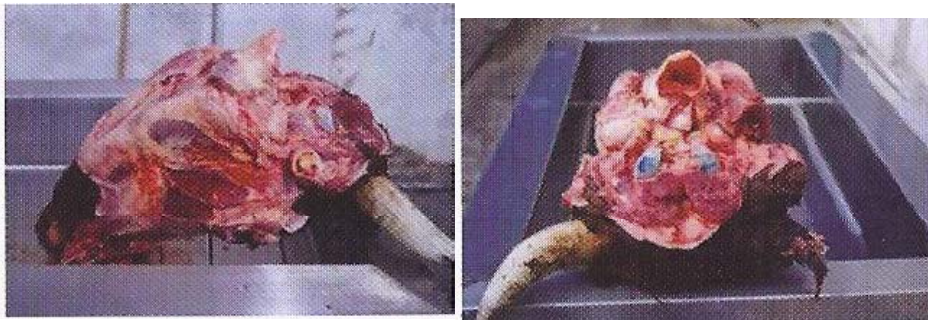
OBTENCIÓN DEL TALLO CEREBRAL EN EL RASTRO (TÉCNICA DE LA CUCHARILLA)

- Botas, overol, mandil, lentes protectores o careta de protección, así como guantes de látex.
- Cuchara especial.
- Tijeras Rectas.
- Pinzas de disección con dientes de ratón.
- Dos contenedores de plástico de cierre hermético (frascos para muestras de Examen General de Orina).
- Formalina al 10%.
- Plumón Indeleble.

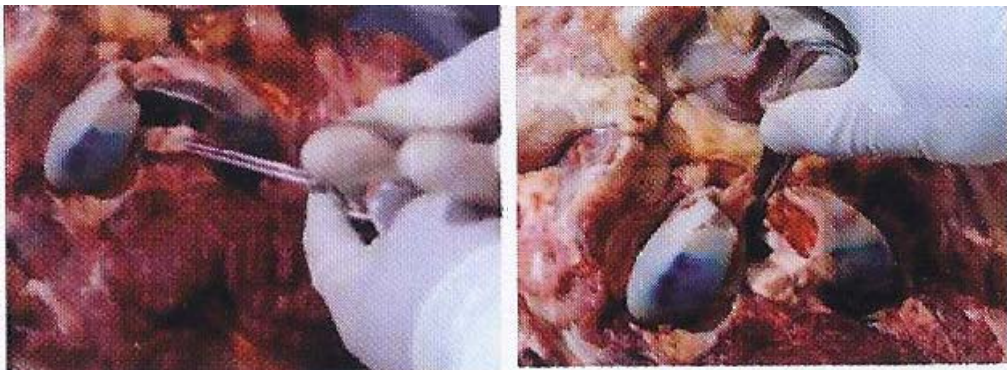


PROCEDIMIENTO

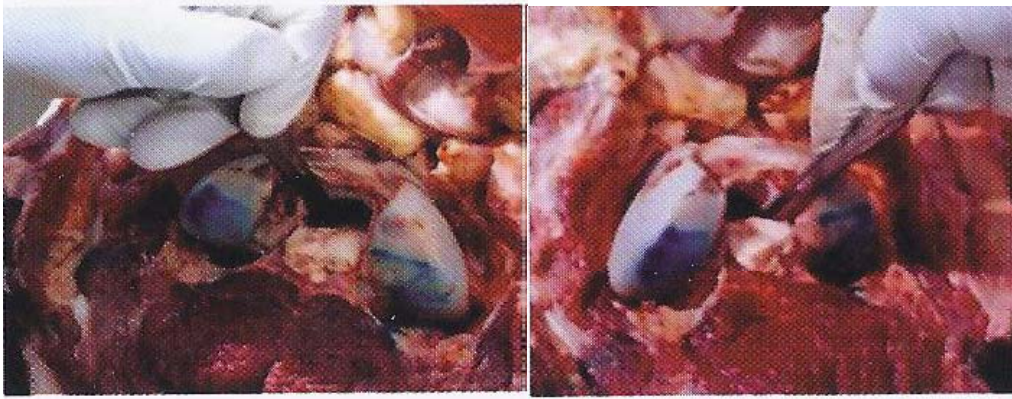
- Una vez separada la cabeza del cuerpo del animal a nivel de la articulación atlanto-occipital, hay que colocarla sobre una superficie limpia con la cara hacia abajo.



- Introducir la cucharilla a través de la parte superior del agujero magno con la punta hacia abajo.



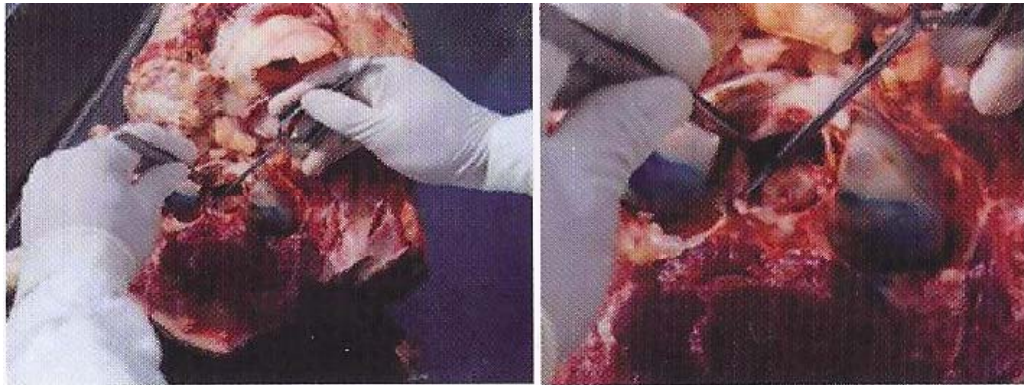
- Una vez que la cucharilla haya llegado hasta el tope (cresta eseno-occipital), realizar un giro de 180° hacia la derecha y posteriormente hacia la izquierda.



- Extraer la cucharilla obteniendo únicamente el puente y la médula oblonga con el óbex.



- En caso de atorarse, desprender con pinzas y tijeras los nervios craneales XII, XI y X (hipogloso, espinal accesorio y vago) de las meninges y retirar el tallo cerebral.

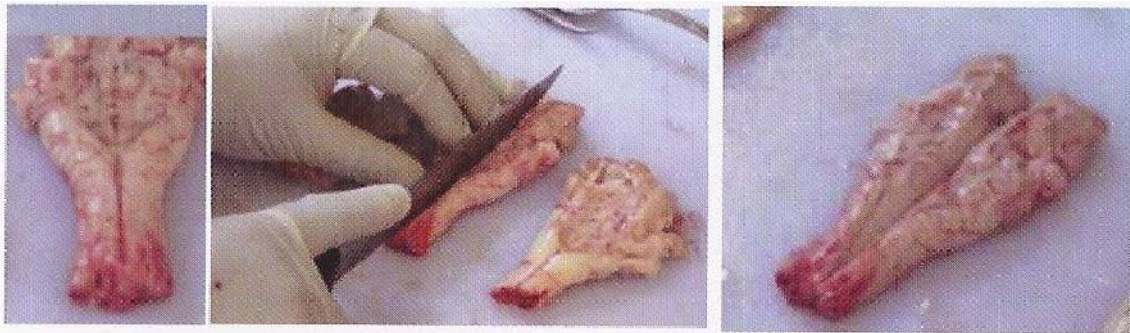


- En caso de encontrar coágulos alrededor del tallo cerebral, eliminarlos con pinzas o tijeras.
- Identificar los frascos de 100 ml. (con y sin formalina) con plumón indeleble. El número asignado debe identificar cada una de las muestras del caso o animal (muestra en refrigeración y en formol) y el formato para el envío de muestras.





- Realizar un corte sagital medio de la muestra antes de proceder a su empaque.



- Colocar una mitad del tallo cerebral en el interior del frasco de 100 ml. Sin formalina (muestra en refrigeración) y cerrarlo perfectamente.



- La otra mitad de la muestra (medio tallo cerebral) colocarla en el otro frasco de 100 ml., con formalina al 10% hasta cubrir totalmente la muestra (Deberá tener una relación de una parte de tejido por diez de formalina).



- Cada muestra deberá incluir información epidemiológica por medio del “Formato para el envío de Muestras CPA-ST-F-048” de la Vigilancia Activa de Encefalopatía Espongiforme Bovina, identificados con el mismo número de las muestras.

EMPAQUE Y ENVÍO DE MUESTRAS

- Deberá hacerse inmediatamente después de haberse extraído la muestra.
- Requiere del correcto envasado, identificación y sellado.



BIBLIOGRAFÍA

1. <http://neurologia.rediris.es/congreso-1/conferencias/priones-2.html>
2. <http://www.ciad.mx/boletin/julago2004/EEbovina.pdf>
3. Plan de emergencia para la atención de un brote de Encefalopatía Espongiforme Bovina en los Estados Unidos Mexicanos.
4. http://web.oie.int/esp/maladies/fiches/e_B115.htm
5. <http://es.scribd.com/doc/3288356/La-Encefalopatia-Espongiforme-Bovina-o-Enfermedad-de-la-Vaca-Loca>
6. http://200.16.86.38/esp/sec-fagrarias/esp/docs-revista/volumenes/tomo.php?numero=20_5
7. <http://meat.tamu.edu/pdf/BSEresourcespanish.pdf>
8. <http://www.rincondelvago.com/encefalopatas-espongiformes-transmisibles.html>.
9. http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/16-eeb.pdf
10. Correa Girón Pablo. 2001 “Enfermedades de las vacas locas”. Encefalopatía Espongiforme de los Bovinos. Reunión Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Cenin-Microbiología p1-4.
11. http://web.oie.int/esp/maladies/fiches/e_B115.htm
12. <http://www.medynet.com/elmedico/publicaciones/centrosalud7/434-437.pdf>
13. http://www.zoonosis.unam.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=75&Itemid=105
14. Encefalopatía Espongiforme Bovina, MVZ, MSc., DCV Mario Medina Cruz, Departamento De reproducción, FMVZ, UNAM.

15. <http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/bse/priones/priones2.htm#encef2>
16. Wilesmith JW: Manual on Bovine Spongiform Encephalopathy, p. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1998.
17. <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/eeb/enfermedad/diagno.htm>
18. Zeidler M, Gibbs CJ, Meslin F: WHO Manual for Strengthening Diagnosis and Surveillance of Creutzfeldt-Jakob Disease p. 39-40, World Health Organization, Geneva, 1998.
19. Manual para la toma de muestras de EEB - 3a Ed – 2007
20. <http://www.fvet.uba.ar/vacaloca.htm>
21. Moreno Chan, Valdez Liliانا. 1996. Encefalopatías Espongiformes de los Animales de Zoológico. Ciencia Veterinaria Vol. 7. Universidad Nacional Autónoma de México. P 23-61.
22. http://web.oie.int/esp/info_ev/es_BSE_Control.htm