

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA EN LA REGIÓN LAGUNERA**

POR

CORINE MENDOZA SANTELICES

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2009

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA EN LA REGIÓN LAGUNERA**

TESIS

POR:

CORINE MENDOZA SANTELICES

ASESOR PRINCIPAL:

M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

COLABORADORES:

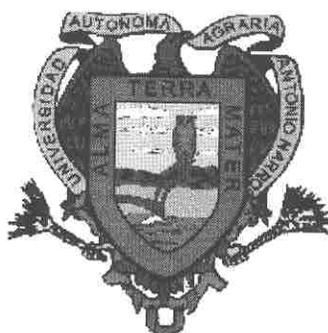
M.V.Z. JOSE LUÍS GÜEMES JIMÉNEZ

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA EN LA REGIÓN LAGUNERA**

TESIS POR:

CORINE MENDOZA SANTELICES

ASESOR PRINCIPAL


M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA EN LA REGIÓN LAGUNERA**

TESIS POR:

CORINEN MENDOZA SANTELICES

ASESOR PRINCIPAL



M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**



M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Presidente del jurado


M.C. José Luis Francisco Sandoval Elías

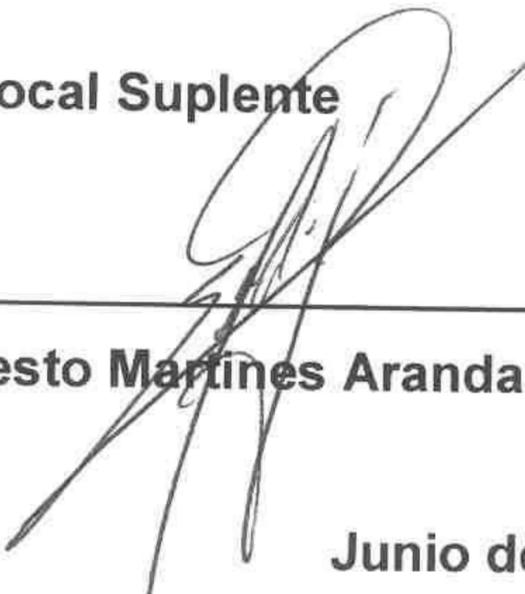
Vocal


M.C. Sergio I. Barraza Araiza

Vocal


M.V.Z. Rodrigo I. Simón Alonso

Vocal Suplente


M.C. Ernesto Martínez Aranda

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2007

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
CAPITULO 1	
LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES	
1.1 Definición.....	3
1.2 Encefalopatías Espongiformes Transmisibles mas importantes.....	4
CAPITULO	
ORIGEN DE LA ENFERMEDAD	
2.1 Etiología	
Clasificación del agente causal.....	5
2.2 Príon: Agente causal de la enfermedad.....	5
2.3 Diseminación Proteica.....	7
CAPITULO 3	
CAUSAS QUE PROVOCAN LA TRANSMISION DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA	
3.1 Factores predisponentes.....	10
3.2 Transmisión.....	11
3.3 Huésped.....	12
3.4 Cuadro clínico	
3.4.1 Incubación.....	12
3.4.2 Signos clínicos.....	12
3.5 Lesiones.....	13
3.5.1 Topografía de las lesiones de EEB.....	15
3.6 Diagnostico.....	16
3.7 Tratamiento.....	19
3.8 Control y erradicación.....	19
CAPITULO 4	
HIPOTESIS	
4.1 Hipótesis nula.....	21
CAPITULO 5	
METODO Y MATERIALES	
5.1 Obtención del tallo cerebral en rastro (técnica de la cucharilla).....	22
5.2 Empaque y envío de muestras.....	30
CAPITULO 6	
RESULTADOS.....	33
CAPITULO 7	
CONCLUSIONES.....	34
BIBLIOGRAFIA.....	35

RESUMEN

Para detectar la posible presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), en los estados de Coahuila y Durango, se tomaron un total de 3038 muestras de encéfalos, en un periodo de 5 meses, de bovinos en rastros municipales y plantas Tipo Inspección Federal (TIF), ubicados en dichos estados, los encéfalos se enviaron al laboratorio de alta seguridad de la Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales (CPA) en la ciudad de México para su diagnóstico.

Los resultados obtenidos fueron negativos a EEB de todos los encéfalos enviados.

Palabras clave: Detección-prevención-control de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), Western blot, ELISA.

INTRODUCCION

la detección en el año 2000 de casos autóctonos de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) en el ganado bovino de países europeos considerados hasta entonces libres de la enfermedad, avivó la inquietud acerca de la extensión de la epidemia de EEB y suscitó interrogaciones sobre posibles riesgos para la salud pública. La inquietud traspasó las fronteras de Europa, en parte a causa de la incertidumbre sobre los posibles riesgos asociados a las importaciones anteriores a esa fecha de bovinos y productos derivados de animales procedentes de países afectados por la EEB.

El 21 de diciembre del 2000, la Organización mundial de la Salud (OMS), organizó una reunión informal de representantes de la OMS, de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Oficina Internacional de Epizootias, y doce consultores, también estuvieron representantes de la Organización Mundial del Comercio (OMC) y la Comisión Europea (CE). Los participantes concluyeron que aunque no existían hasta el momento avances notables en el conocimiento científico de la EEB y de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (vECJ), la percepción de los problemas era mucho más clara. (2)

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, en la recolección de muestras de encéfalos de bovinos, ovinos y caprinos que muestren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva) (22)

CAPÍTULO 1

LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

1.1 Definición

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), también llamada “enfermedad de las vacas locas” fue diagnosticada por primera vez en el Reino Unido en 1986 y actualmente se encuentra distribuida en la mayor parte de los países de Europa, además de Israel, Japón, Canadá y Estados Unidos. Es una enfermedad crónica, degenerativa y fatal, que afecta el sistema nervioso central de los bovinos adultos y pertenece al grupo de enfermedades denominadas Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs) como el Scrapie o Prúrigo Lumbar de los ovinos y la Enfermedad Crónica Desgaste de los venados y renos. Se postula que el agente causal de la EEB es el mismo que provoca el Scrapie ovino, el cual logró adaptarse a los bovinos; sin embargo, no ha sido caracterizado completamente y se cree que es una partícula proteica infecciosa (prión) de menor tamaño que los virus. (1)

Las EETs o TSEs, también son conocidas como enfermedades prionicas, son una familia extraña, de progreso lento, y desordenes neurodegenerativos que afectan uniformemente a humanos y animales. Todas estas enfermedades tienen periodos de incubación de meses o años entre la infección y la aparición de los signos clínicos. (3)

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (**EEB**) es el nombre científico de una enfermedad que es conocida coloquialmente como "*enfermedad de las vacas locas*" y que fue diagnosticada por primera vez en el Reino Unido en los años 80.

Es una afección degenerativa del sistema nervioso central de los bovinos incurable, que se caracteriza por la aparición de síntomas nerviosos en los animales adultos, que progresivamente, concluye con la muerte del animal.

La enfermedad está causada por un agente transmisible no convencional que es una proteína infecciosa denominada "*prion*".

Esta enfermedad se caracteriza por tener un periodo de incubación prolongado en torno a los 4 ó 5 años.

Los síntomas de esta enfermedad están motivados por la acumulación del prión en las células neuronales, originando la muerte celular. Un análisis microscópico revela lesiones como vacuolas que dan al tejido nervioso un aspecto de esponja.

La vía de transmisión de esta enfermedad conocida hasta la fecha es la ingestión por los animales de alimentos contaminados con el prión. Además, la información científica de que se dispone indica que existe un riesgo de transmisión de la madre afectada a los terneros nacidos de ella. (4)

Encefalopatías Espongiformes Transmisibles mas importantes:

Encefalopatías espongiformes descritas en animales:

- Scrapie en oveja y cabra.
- Encefalopatía espongiforme felina.
- Encefalopatía espongiforme del visón.
- Encefalopatía espongiforme de los animales de zoo.
- Encefalopatía caquetizante consuntiva crónica del ciervo.

En el hombre se conocen cuatro tipos de encefalopatías espongiformes:

- KURU
- Enfermedad de Creutzfeld Jacob(ECJ): o polio encefalitis presenil Subaguda
- Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheniker
- Insomnio Familiar Mortal (4)

CAPITULO 2

ORIGEN DE LA ENFERMEDAD

2.1 Etiología

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.(5) En otras palabras: Su causa parece ser una proteína infecciosa a la que se ha llamado "Prión". Se trata de una partícula aún más pequeña que un virus, un agente infectante no habitual y se asemeja al agente responsable de una enfermedad que afecta a las cabras y ovejas: el "scrapie" o prurigo lumbar. Este "prión" es muy resistente a los medios habituales de desinfección.

Las vacas se contagiarían al comer piensos elaborados con restos de otros animales. No se ha comprobado el contagio de las vacas enfermas a sus crías ni a otras vacas.(6)

2.2 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 autocatalítico.

- La conversión se da en las neuronas provocando daño al tejido nervioso.
- Se acumulan de forma progresiva en el SNC formando estructuras amiloides lo que causa disfunción neurológica y la muerte
- Es resistente a tratamientos físicos (calor, luz ultravioleta y radiación ionizante).
- Es estable en un amplia gama de pH
- Sobrevive en tejidos cadavéricos.

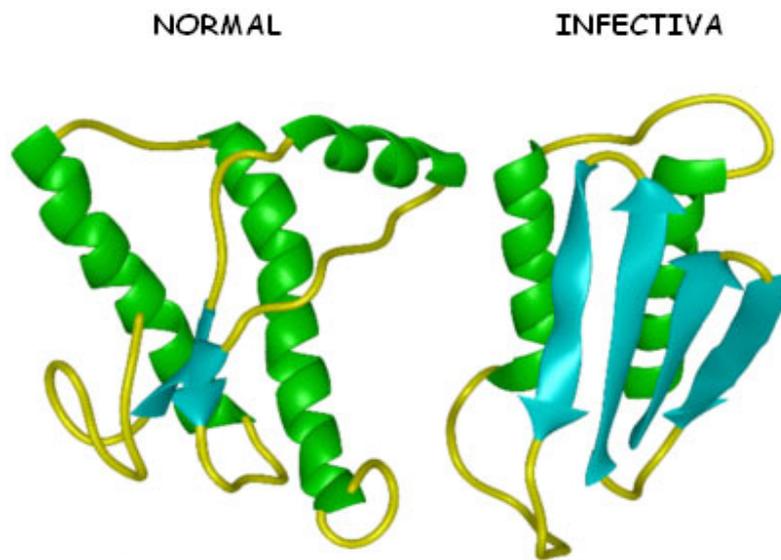
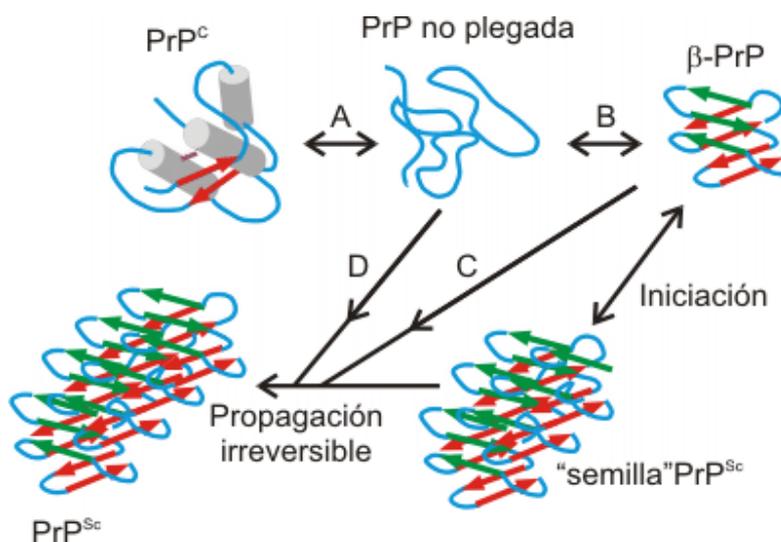


Figura 1. Estructura tridimensional de proteína priónica.

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 (Fig. 2).(10)



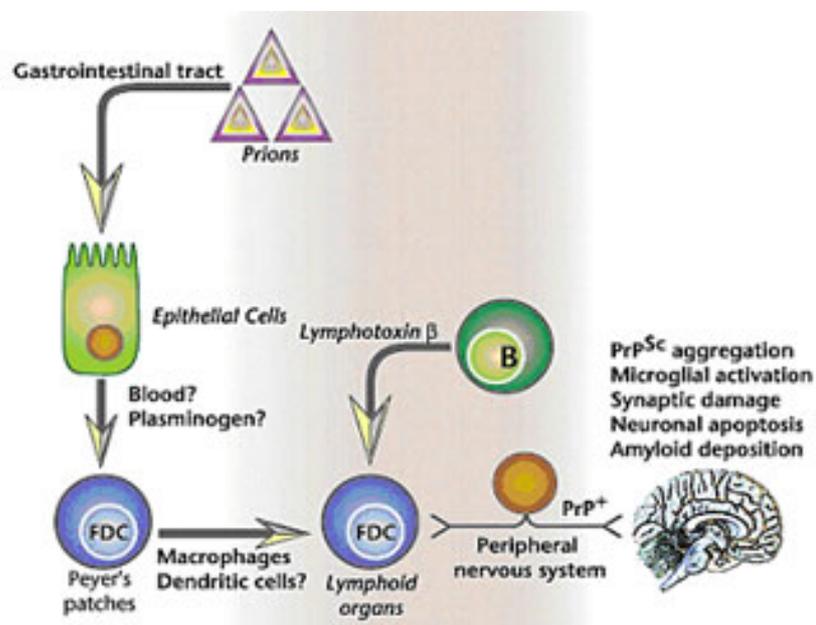
(Fig. 2)- Mecanismo posible de propagación priónica. Las isoformas celulares alfa- helice de la proteína priónica (PrP^c) pasan a través de un estado “no plegado” (A) a otro en el que se repliegan en forma beta -plegada, beta-PrP (B). Esta isoforma beta- PrP tiende a la agregación en concentraciones salinas fisiológicas. La replicación priónica puede requerir un tamaño crítico de esta isoforma aberrante que actué como semilla para la agregación de más monómeros de beta-PrP o de PrP no plegada, proceso que tiene lugar de manera irreversible.

2.3 Diseminación Proteica

Para que la infección prospere es necesaria la concatenación de eventos muy concretos y el paso clave es que los priones lleguen a atravesar la barrera hematoencefálica. El proceso se inicia con la replicación del prión infeccioso en el sistema linforeticular, sobre todo en las células germinales linfoideas alfa: linfocitos B y las *Follicular Dendritic Cells* (FDCs) La primera hipótesis surgida hacia el año 1999 relacionó la infectividad de los priones en el cerebro con la presencia de algún cofactor neurotóxico o catalítico producido en los

linfocitos B. Esta teoría posteriormente fue desestimada pero el modelo experimental utilizado (ratones deficientes en células B) se consideró adecuado para conocer el papel de los órganos linfoides y el de células inmunológicas del cerebro en casos de neurotoxicidad.

En el año 2000 se demostró en ratones infectados que los priones se encontraban en los linfocitos T y B esplénicos y en las FDCs. La formación y mantenimiento de las FDCs maduras requiere la presencia de linfocitos B que expresen linfotóxina-b (LT-b). Después de inocular priones intraperitoneales a ratones y su posterior tratamiento con el receptor soluble LTR-b desaparecen los FDCs maduros del bazo, hay una abolición en la acumulación de priones y un retraso de invasión neuronal. Así queda demostrado que los FDCs son el principal lugar de replicación de los priones en el bazo y en otros órganos linfoides. (10)



(Fig. 3) Esquema de la diseminación proteica

El prión es pues una forma alterada de una proteína celular normal que ha podido perder su función pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica. La patología se manifiesta probablemente por la acumulación de la proteína anormal.(11)

CAPITULO 3

CAUSAS QUE PROVOCAN LA TRANSMISION DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

3.1 Factores predisponentes

En 1987 Wells y cols describieron cambios espongiformes en el cerebro de una vaca afectada de EEB. El origen de la epidemia de EEB podría estar relacionado con un cambio en el proceso de explotación ganadera en 1981, de forma que los priones de EEB no fueron completamente inactivados antes de alimentar a las vacas con carne y huesos procedentes de otras vacas infectadas. (12)

Los científicos piensan que la enfermedad se transmite entre los bovinos por alimentación con desechos animales procesados de bovinos u ovinos infectados. El prion es resistente a los procedimientos comerciales de desactivación tales como el tratamiento térmico, o sea que no puede ser destruido completamente durante el procesado. La incidencia de la EEB es mucho mayor en el ganado lechero que en el de carne, ya que el ganado lechero recibe mas raciones concentradas que pueden contener harina de carne y huesos. (13)

En 1982, la población de ganado ovino en Gran Bretaña, se incremento en un 16%, por lo que aumento el numero de rebaños infectados con Scrapie, por lo tanto, el numero de ovejas (probablemente afectadas con Scrapie), incluidas en la elaboración de harinas de carne y hueso aumento.(14)

Por otra parte, en Gran Bretaña en 1980, por diversos motivos, se suspendió el tratamiento de extracción de grasas con solventes hidrcarbonados (hexano) en la elaboración de harinas de carne y hueso, se cambio el proceso utilizando sistemas de baja temperatura (15)

3.2 Transmisión

El porque 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 misma enfermedad. Esta teoría supone aceptar que la proteína sufre modificaciones y traspasa las barreras interespecificas. 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 un alto rango de hospedadores, así de forma natural se ha comprobado que es transmisible al gato común, y animales de zoo tales como felidos 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 demostrado hasta el momento puesto que los resultados no han sido concluyentes.(16)

3.3 Huésped

En condiciones naturales, la EEB afecta a todas las razas de bovinos lecheros y productores de carne, aunque se presenta con mayor frecuencia en ganado productor de leche, debido a las practicas de alimentación con concentrados elaborados a base de restos de rumiantes infectados con Screpie, situación que es menos frecuente en los bovinos productores de carne(17)

3.4 Cuadro clinico

3.4.1 Incubación

El período de incubación es de 3 a 5 años. En condiciones experimentales, la inoculación de bóvidos de 5 meses de edad permite observar los primeros síntomas después de un periodo de 37 semanas (síntomas nerviosos confirmados a las 50 semanas), contrastan con el periodo de incubación señalado en la enfermedad natural.

3.4.2 Signos clínicos

Dado que entre el momento de la infección de un animal con el prion y la aparición de los signos clínicos normalmente transcurren en promedio entre cuatro y cinco años, los signos clínicos de EEB se detectan en animales adultos. Los síntomas pueden durar por un periodo de dos a seis meses hasta la muerte del animal. Los animales con EEB pueden presentar algunos de los siguientes síntomas:

Comportamiento

Nerviosismo, miedo, cambio de comportamiento hacia la gente conocida, incremento en el lamido de nariz y sacudido de cabeza, patadas, alteración del estado social en el hato.

Movimiento anormal

Postura anormal de cabeza, dificultad para levantarse, ataxia, debilidad, actividad muscular espontánea.

Es resistente a tratamientos físicos (calor, luz ultravioleta y radiación ionizante).

Es estable en un amplia gama de pH

Sobrevive en tejidos cadavéricos.

Incremento en la respuesta a estímulos

Hipersensibilidad al sonido, luz, tacto, especialmente de la cabeza y cuello. El animal patea al ser tocado en las extremidades.

Signos no neurológicos

Pérdida de peso, reducción de la producción láctea, reducción de contracciones ruminales, bradicardia

Presentación de signos clínicos

- 1/3 presenta signos típicos.
- 1/3 presenta signos típicos moderados.
- 1/3 no presenta signos típicos de EEB, pero puede presentar otros no neurológicos tales como:
 - reducción de la producción láctea y pérdida de peso
 - cojeras
 - mastitis
 - postración

3.5 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 se caracteriza por 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.

El diagnóstico se realiza a partir de la observación de las lesiones, mediante la tinción de rutina de la hematoxilina- eosina, en determinados núcleos nerviosos.

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

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

La vacualización 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.
- Placas de amiloide: en las encefalopatías espongiformes humanas, sobre todo en la nueva variante de la ECJ, en el KURU y en la enfermedad de Gerstmann- Straüssler- Scheincker, se observa mediante examen histológico del encéfalo, placa de características tintoriales, inmuno histoquímicas y ultraestructurales de amiloide.

Es de destacar que las encefalopatías espongiformes no se acompañan de lesiones inflamatorias: no aparece encefalitis. (18)

3.5.1 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 mesencefalo, y posteriormente a la médula espinal.

Sus localizaciones esenciales son:

- En el mesencefalo: el colliculus anterior, la sustancia gris central, la formación reticular, la sustancia negra y el núcleo rojo.
- En el puente de metencefalo: 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 la oliva.
- En la medula 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 la 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 esta mal adaptado y las muestras permanecen demasiado tiempo en alcohol al 70% .

- la segunda restricción se debe a que en bóvidos normales y viejos es posible encontrar grandes vacuolas en el pericario 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.

3.6 Diagnostico

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 vacuolacion o microcavitación de las células nerviosas en los núcleos del tallo cerebral. (19)

Diagnostico clínico

El diagnóstico clínico con corteza es imposible. Se puede sospechar de EEB si se aprecian afecciones nerviosas apiréticas, que evolucionan lentamente durante varias semanas, en bovinos de más de tres años y asociadas a alteraciones en el comportamiento , en la locomoción y en la sensibilidad.

Esta sospecha se ve reforzada si el animal ha sido importado de Gran Bretaña después de 1982 o ha consumido suplementos proteicos preparados con harinas animales importadas de Gran Bretaña .

El diagnóstico diferencial es particularmente delicado con numerosas afecciones de etiología metabólica (hipomagnesemia, acetonemia...), carencial (carencia de cobre...), bacteriana (

listeriosis, abscesos del sistema nervioso...), viral (rabia, Aujeszky, forma nerviosa de coriza gangrenoso...), traumático o tóxica.

Diagnostico de laboratorio

Inmunohistoquímica

Es la detección microscópica de PrPsc teñido inmunológicamente. No solo detecta el PrPsc sino que también revela su patrón de distribución topográfica en el tejido. Resultan críticas para la sensibilidad y especificidad del método, el protocolo de fijación del tejido y los procesos adicionales para desenmascarar los sitios con capacidad antigénica del PrPsc y para eliminar el PrP normal. Estudios en ovinos con signos clínicos de scrapie y en humanos con EETs, demostraron que la inmunohistoquímica tenía una sensibilidad mayor que la histopatología clásica. En ovinos infectados con scrapie se detectó claramente PrPsc en tejidos linfoides de forma temprana en el periodo de incubación, antes de aparecer los síntomas clínicos. Esto podría servir también para la nueva variante del CJ en humanos. (20)

Western blot

Puede ser más sensible y tiene tal ventaja adicional de demostrar los deferentes tipos de PrPsc en CJD. La técnica de Western blot requiere de celulas homogenizadas y no revela detalles anaromicos. (18)

ELISA, DELFIA e inmunoensayo dependiente de la conformación

En ELISA y DELFIA (Disociation Enhanced Lanthanide Fluoro Immuno Assay) se liga el PrP a placas de plástico multipocillo y luego se somete a anticuerpos específicos. La detección de la proteína viene dada por una reacción colorimétrica catalizada por un enzima (ELISA) o por la resolución en el tiempo de la reacción fluorimétrica de un quelato de lantánido unido a un anticuerpo de detección primario o secundario (DELFIA). El reconocimiento de dos

determinantes antigénicos del PrP con DELFIA, convierten a esta prueba en un método sensible y reproducible para la valoración de PrP en sangre y fracciones sanguíneas y puede ser desarrollado para constituir la base de un test diagnóstico de EETs.

La prueba DELFIA, está basada en las particulares propiedades de fluorescencia de quelatos de los metales del grupo de los lantánidos europeo, samario, disprosio y terbio. Las propiedades de estos quelatos permiten desarrollar pruebas con una excelente relación señal/ruido que mejora su sensibilidad. Los laboratorios Wallac (<http://www.wallac.com>) proporcionan un amplio abanico de productos bajo las marcas DELFIA® y LANCE™ en forma de kits o de reactivos para marcado con uno o más lantánidos en pruebas de mono o multimarcado. Todos los reactivos DELFIA se marcan usando el quelato DELFIA N1 y son apropiados para análisis de alta sensibilidad basados en técnicas de separación como los de detección de proteínas, adhesión de células o inmunoensayos. La fluorescencia se desarrolla por la adición de una solución potenciadora. La fluorimetría disociada en el tiempo es una gran alternativa al uso de radionúclidos en las pruebas analíticas. Permite análisis fiables y sobre todo una sensibilidad mejor que cualquier otro método no basado en radioisótopos. Esta alta sensibilidad radica en las propiedades peculiares de los quelatos de lantánidos, que permiten una distinción clara de la fluorescencia de fondo del entorno, basada en el tiempo y en la longitud de onda de su fluorescencia. La longitud de onda de la luz que emiten es unos 200-300 nm mayor que la de la luz de excitación que se usa y es única para cada fluoróforo de lantánido, con lo que al no superponerse los espectros de emisión, es muy adecuado para desarrollar pruebas en las que se utiliza más de un reactivo marcado en la misma prueba, por ejemplo dos anticuerpos monoclonales con un fluoróforo distinto cada uno, dirigidos contra dos determinantes antigénicos de la molécula que se quiere detectar. La fluorescencia de los quelatos de lantánido dura 20-35 veces más que la de los fluoróforos convencionales y la fluorescencia disociada en el tiempo comienza sólo después de que la fluorescencia de cualquier sustancia convencional se haya extinguido.(20)

3.7 Tratamiento

No existen posibilidades terapéuticas en la EEB, procediéndose al aislamiento y sacrificio de los animales (14)

3.8 Control y erradicación

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

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

1. en 1998 se prohibió la utilización de cadáveres de bovinos.
2. en 1989 se prohibió la utilización del encefalo, medula espinal, tonsilas, timo, bazo e intestino de origen bovino, en la alimentación de humanos y bovinos.
3. en todos los países afectados cada 6 meses los bovinos son examinados buscando signos de EEB (14)

Para prevenir la entrada de EEB, del exterior hacia los EE.UU. se han restringido la importación de rumiantes procedentes de países afectados. También se incluyen: suero fetal de bovino, harina de hueso de carne y de sangre, menudos, tripas, grasas y granuladas, excepto para propósitos de investigación; tampoco se pueden importar colágeno y derivados, líquido amniótico o extractos, líquidos placentarios, albúmina 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 de rumiantes. No se ha hecho importaciones de este tipo del Reino Unido a los EE. UU. desde 1985 (17)

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

1. bovinos inspeccionados postmortem
2. deben haber nacido de dar la prohibición de dar a los rumiantes alimentos con proteínas de rumiantes
3. la carne de bovino debe ser deshuesada
4. se deben retirar los nodulos linfaticos y tejidos nerviosos visibles (17)

México se encuentra libre de la EEB y Screpie, lleva a cabo un programa easespecifico de vigilancia de neuropatías en rumiantes. Esta vigilancia consiste por un lado de la recoleccion de muestras de encefalos de bovinos, ovinos y caprinos que mustren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva). En estos casos se hace el diagnostico diferencial, particularmente con rabia (por considerarse una enfermedad enzootica en nuestro pais) las mustras que resulten negativas por inmunoflouresencia a rabia, se analizaran por hstopatologia para diagnostico de EEB o Screpie (21)

CAPITULO 4

HIPOTESIS

La Región Lagunera esta libre de EEB, a pesar de que existe una constante entrada de ganado procedente de EE. UU. y Canadá, debido a la estrecha supervisión de la CPA y demas dependencias encargadas de ello.

Hasta ahora no se han reportado casos positivos de EEB en los cerebros recolectados y analizados por la técnica de histopatología de tallo cerebelar e inmunohistoquímica.

4.1 Hipótesis nula

Dada la posibilidad de que se reporte algún caso positivo de EEB, `puede tener relación con la importación de bovinos y caprinos de otros países, y al relajamiento de los puntos de inspección de nuestro país (aeropuertos, fronteras, puertos).

CAPITULO 5

MATERIALES Y METODOS

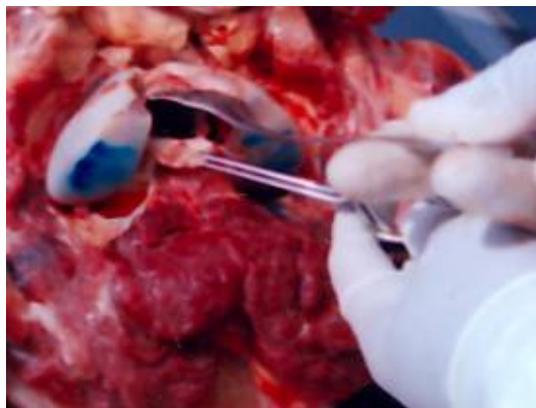
5.1 Obtención del tallo cerebral en rastro

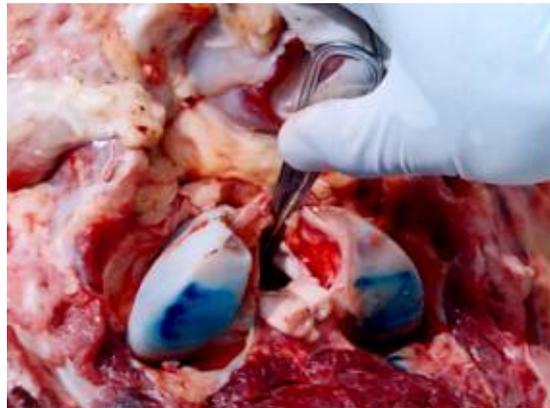
(técnica de la cucharilla)

- 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

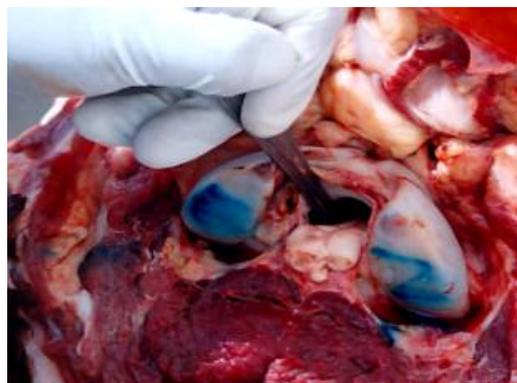
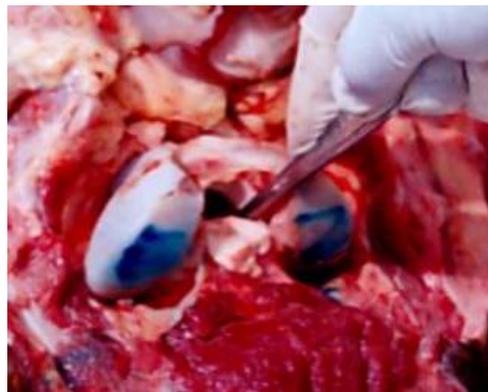
Procedimiento:

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

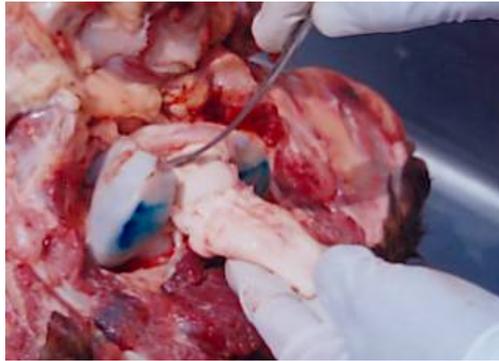




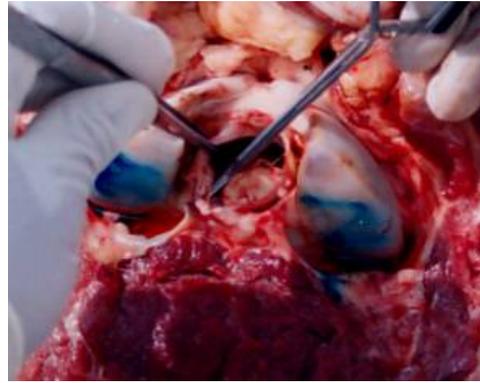
- Una vez que la cucharilla haya llegado hasta el tope (cresta esfeno-occipital), realizar un giro de 180° hacia la derecha y posteriormente hacia la izquierda.



- 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.
- La muestra adecuada es el tallo cerebral



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

5.2 Empaque y envío de muestras

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

Material:

- Hielera de tamaño adecuado, para las muestras en refrigeración.
- Caja de cartón.
- Refrigerantes (los necesarios para conservar las muestras frescas a temperatura de refrigeración durante el envío).
- Plumón indeleble.
- Etiquetas rotuladas con los datos del Remitente y del Destinatario tipo autoadheribles o para ser pegadas con lápiz adhesivo o pegamento.
- Original y copia de los formatos para el envío de muestras de EEB (CPA-ST-048) y cuando corresponda a un caso de neuropatía, original y copia del formato SIVE – 02 debidamente llenados.
- Cinta adhesiva.(22)

Las muestras deben ir acompañadas de un formato con los datos completos de las mismas y el remitente.

Antes de llenar este formato, favor de leer el instructivo al reverso. Utilice un formato por cada muestra enviada.		N° DE LA CPA: VE <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	N° DE CENASA: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
IDENTIFICACIÓN			
1. Región CPA/DINESA: <input type="text"/>	2. N° en Origen: <input type="text"/>	3. Fecha de envío de la muestra: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
DATOS DEL RASTRO		DATOS DEL PROPIETARIO	
4. Tipo de Rastro: Municipal <input type="checkbox"/> Planta TIF <input type="checkbox"/> N° <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Particular <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/> 5. Estado: _____ 6. Municipio: _____		7. Actividad de la persona que lleva a sacrificio al animal: Propietario <input type="checkbox"/> Introdutor <input type="checkbox"/> Empresa o Empacadora <input type="checkbox"/> 8. Nombre del propietario: _____ 9. Teléfono y/o Fax: _____	
DATOS DE LA EXPLOTACIÓN DE ORIGEN			
10. Nombre de la explotación: _____			
11. Ubicación: _____			
Calle		Número	Localidad
Municipio		Estado	Núm. Telefónico y Fax
12. Tipo de Explotación:		13. Función Zootécnica:	
Intensivo <input type="checkbox"/>	Extensivo <input type="checkbox"/>	Leche <input type="checkbox"/>	Carne <input type="checkbox"/>
Semintensivo <input type="checkbox"/>	Traspatio <input type="checkbox"/>	Doble Propósito <input type="checkbox"/>	Pie de Cría <input type="checkbox"/>
DATOS DEL ANIMAL			
14. Especie: Bovino <input type="checkbox"/>		15. Edad: Mayor de 30 meses <input type="checkbox"/>	16. Sexo: Hembra <input type="checkbox"/>
Ovino <input type="checkbox"/>		Mayor de 24 meses <input type="checkbox"/>	Macho <input type="checkbox"/>
Caprino <input type="checkbox"/>		Especifique: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	17. Raza: _____
18. Si es un animal de <u>importación</u> , anote la fecha de importación:		y el país de origen: _____	
DIA		MES	AÑO
19. Si es de origen <u>Nacional</u> , señale si es:			
Descendiente de un animal importado <input type="checkbox"/>		20. En caso afirmativo, anote el país de origen de los padres o del semen: _____	
Producto de inseminación con semen importado <input type="checkbox"/>		_____	
21. ¿Presentó signos clínicos antes del sacrificio? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se ignora <input type="checkbox"/>		22. ¿Qué signos presentó el animal? _____	23. ¿Cuál es su diagnóstico presuntivo? _____
ALIMENTACION			
24. ¿El animal fue alimentado con concentrados? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se ignora <input type="checkbox"/>		25. Si su respuesta fue afirmativa, que tipo de concentrado consumió: Comercial <input type="checkbox"/> Elaboración propia <input type="checkbox"/>	
26. Señale si el concentrado o alguno de sus ingredientes ha sido elaborado con harina de carne y hueso de origen rumiante: Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se ignora <input type="checkbox"/>		27. En caso afirmativo, indique el país de origen de las harinas: _____	
ENVIO DE MUESTRAS			
28. Tipo de muestra:		29. Tipo de conservador utilizado:	30. Prueba solicitada:
Tallo Cerebral <input type="checkbox"/>	Encéfalo Completo <input type="checkbox"/>	Formol <input type="checkbox"/>	Histopatología <input type="checkbox"/>
Medio Encéfalo <input type="checkbox"/>		Hielo <input type="checkbox"/>	Inmunofluorescencia Directa <input type="checkbox"/>
		Glicerina <input type="checkbox"/>	Ambas <input type="checkbox"/>

CAPITULO 6

Resultados

En el siguiente cuadro se puede observar el resultado de laboratorio de los encéfalos enviados para el diagnóstico de EEB mediante histopatológica, en los estados de Coahuila y Durango durante el 2009.

Estado	No. De encéfalos positivos a EEB	No. De encéfalos negativos a EEB
COAHUILA	0	1551
DURANGO	0	1487
Total	0	3038

CAPITULO 7

Conclusiones

Se concluye que la presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina en los estados de Coahuila y Durango es nula debido a las barreras de defensa que operan actualmente en nuestro país.

El riesgo de importar animales de países afectados con EEB es mínimo, a causa de los requisitos de importación que exige México. Así mismo el país prohibió la importación, y el consumo de harinas de carne, sangre, hueso para el consumo de rumiantes de países afectados con Scrapie y EEB.

La ausencia del tallo cerebral en encéfalos enviados, imposibilitan el diagnóstico de EEB por histopatología, por lo tanto se debe tener conocimiento de la técnica para así, obtener el encéfalo completo.

BIBLIOGRAFIA

1. Pattison JR: Bovine spongiform encephalopathy. Infect Dis Review 1: 119-121, 1999.
2. http://www.oie.int/esp/ressources/es_BSE_Disease_Card.pmd.pdf
3. Cohen T. Joshua, Duggar Keith, Gray George M. Kreindel Silva 2001.
Evaluation of the potential of bovine spongiform encephalopathy in the United States. Center computational epidemiology college of veterinary Medicine Tuskegee. P. 1-101
4. <http://www.eeb.es/pags/saber.htm>
5. <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/eeb/eet/enfani.htm>
6. <http://www.aepap.org/pdf/eeb.pdf>
7. <http://www.encyclopediasalud.com/articulos/17-ecologia/89764609-que-es-un-prion>
8. <http://www.neurovia.org/700/eprionicas/eprionicas.htm>
9. http://images.google.com/imgres?imgurl=http://www.isciii.es/htdocs/imagenes/adn_ecj.jpg&imgrefurl=http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/salud_publica.jsp&usq=__iMSVWliPXcDPM37Ka7muS3qWXg4=&h=287&w=404&sz=28&hl=es&start=1&tbnid=25uSbPw5nJooVM:&tbnh=88&tbnw=124&prev=/imagenes%3Fq%3Destructura%2Bde%2Bun%2B%2Bprion%26hl%3Des
10. http://images.google.com/imgres?imgurl=http://200.16.86.38/esp/sec-fagrarias/esp/docs-revista/volumenes/imagenes/priones1.gif&imgrefurl=http://200.16.86.38/esp/sec-fagrarias/esp/docs-revista/volumenes/tomo.php%3Fnumero%3D20_5&usq=__5Gu4i3SNgHinaFGZp7t5n-XdDy0=&h=271&w=400&sz=29&hl=es&start=7&tbnid=0pFrwS-

Fvq0peM:&tbnh=84&tbnw=124&prev=/images%3Fq%3Dformacion%2Bde%2Blos%2Bpriones%26hl%3Des

11. <http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/bse/priones/priones.htm>

12. <http://www.aecientificos.es/escaparate/noticias.cgi?idnoticias=464>

13. http://www.oie.int/esp/ressources/es_BSE_Disease_Card.pmd.pdf

14. Moreno Chan, Valdez Liliana. 1996. Encefalopatías Espongiformes de los animales de zoológico. Ciencia Veterinaria Vol. 7. Universidad Nacional Autónoma de México. P 23-61.

15. Pattison JR: Bovine spongiform encephalopathy. Infect Dis Review 1: 119-121, 1999.

16. <http://html.rincondelvago.com/encefalopatas-espongiformes-transmisibles.html>

17. Correa Girón Pablo. 2001 “Enfermedades de las vacas locas”. Encefalopatía Espongiforme de los Bovinos. Reunión Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Cenin-Microbiología p 1-4

18. Wilesmith JW: Manual on Bovine Spongiform Encephalopathy, p. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1998.

19. 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.

20. <http://www.terra.es/personal/uscal.le/diageeb.htm>

21 Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2000. Enfermedades Exóticas de los animales. P. 120-125

22 Comisión México -Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades de los animales. 1995. Manual para la toma de muestras de Encefalopatía Espongiforme Bovina y Scrapie. México. DF.