

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

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA EN LA REGION DE TORREON, COAHUILA**

POR:

SAUL DIAZ ARANDA

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREON, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 20010

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

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA EN
LA REGION DE TORREON, COAHUILA**

TESIS

POR:

SAUL DIAZ ARANDA

ASESOR PRINCIPAL:

M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

COLABORADORES.

M.V.Z. JOSE LUIS GÛEMES JIMENEZ.

TORREON, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 200

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA
EN LA REGION DE TORREON, COAHUILA**

TESIS POR:

SAUL DIAZ ARANDA

ASESOR PRINCIPAL:

A handwritten signature in black ink is written over a solid horizontal line. The signature is stylized and appears to read 'José Luis Francisco Sandoval Elías'.

M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

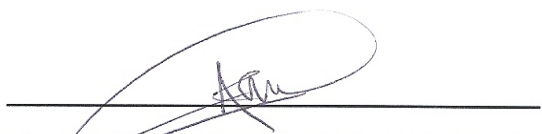
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**MUESTREO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA
EN LA REGION DE TORREON, COAHUILA**

TESIS POR:

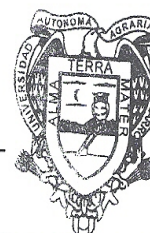
SAUL DIAZ ARANDA

ASESOR PRINCIPAL:


M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL


M.V.Z. ROGRIGO ISIDRO SIMON ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

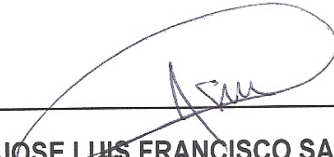
TORREON, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 2010

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

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PRESIDENTE DEL JURADO



M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

VOCAL



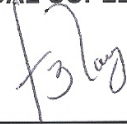
M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO

VOCAL



M.V.Z. JOSE LUIS GÚEMES JIMENEZ

VOCAL SUPLENTE



I.Z. JORGE HORACIO BORUNDA RAMOS

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
ORIGEN DE LA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA	
1.1 Origen de la Enfermedad.....	3
1.2 Definición.....	4
PRION	
2.1 Etiología.....	5
2.2 Prion: Agente Causal.....	6
2.3 Características de los Priones.....	7
2.4 Neuroinvasión del Prion.....	8
TRANSMISION DE LA EEB	
3.1 Factores Predisponentes.....	9
3.2 Transmisión.....	10
3.3 Huésped.....	12
3.4 Cuadro Clínico.....	12
3.4.1 Periodo de incubación.....	12
3.4.2 Signos clínicos.....	12
3.5 Lesiones.....	13
3.5.1 Topografía de las lesiones.....	14
3.6 Diagnostico.....	15
3.6.1 Western Blot.....	15
3.6.2 Inmunohistoquimico.....	15
3.6.3 Elisa.....	16
3.6.4 Diagnostico diferencial.....	16
3.7 Tratamiento.....	16
3.8 Prevención.....	16
3.8.1 Reglamento establecido en los países afectados para el control y erradicación de la EEB.....	17
3.9 Situación Actual en México de la EEB.....	18
HIPOTESIS	
4.1 Hipótesis Nula.....	19

MATERIALES Y METODOS

5.1 Obtención del Tallo Cerebral en Rastro.....	20
5.2 Envió de Muestras a Laboratorio.....	25
RESULTADOS.....	27
CONCLUSIONES.....	28
GLOSARIO.....	29
BIBLIOGRAFIA.....	30

INDICE DE FIGURAS

FIG. 1 Estructura tridimensional de la proteína priónica.....	7
FIG. 2 Neuroinvasión.....	9
FIG. 3 Origen de la epidemiología de EEB en Reino Unido.....	11
FIG. 4. Histopatología de un cerebro con EEB.....	14

INDICE DE TABLAS

Tabla.1 Infectividad de los tejidos.....	4
--	---

INDICE DE FOTOGRAFIAS

FOTO. 1 Cuchara Especial.....	20
FOTO. 2 Vista Lateral de la Cabeza de un Bovino.....	21
FOTO. 3 Cabeza en Posición Decúbito-Caudal.....	21
FOTO. 4 Separación de los Pares Craneales con el Dedo.....	21
FOTO. 5 Separación de los Pares Craneales con el Dedo.....	21
FOTO. 6 Separación de los Pares Craneales con Pinzas.....	22
FOTO. 7 Separación de los Pares Craneales con Pinzas.....	22
FOTO. 8 Introducción de la Cuchara con la Punta Hacia Abajo.....	22
FOTO. 9 Giro de la Cuchara en 180°.....	23
FOTO.10 Giro de la Cuchara en 180°.....	23
FOTO.11 Extracción Casi Total del Tallo Cerebral.....	23
FOTO. 12 Diferentes Tallos Cerebrales.....	24
FOTO. 13 Complicaciones en la Extracción del Tallo Cerebral.....	24
FOTO. 14 Muestra del Tallo Cerebral.....	25
FOTO. 15 Empaque y Envío de la Muestra.....	25
FOTO. 16 Sistema para la Identificación de la Muestra.....	26

RESUMEN

Para detectar la posible presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la región de Torreón, Coahuila, se tomaron un total de 683 muestras de tallos cerebrales en un periodo comprendido de enero de 2010 a abril del mismo año.

Estos tallos cerebrales se obtuvieron en el rastro municipal planta tipo inspección federal (TIF) número (243) ubicado en la ciudad de Torreón, Coahuila.

Estos tallos cerebrales fueron enviados al laboratorio de nivel 2 de la comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas en los animales (CPA) ubicado en Torreón, Coahuila, para su diagnóstico.

Los resultados fueron negativos a EEB de todos los tallos cerebrales enviados.

Palabras clave: Detección, prevención de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), enfermedad neurodegenerativa, histopatología.

INTRODUCCION

La encefalopatía espongiforme bovina (EEB) es una enfermedad neurológica mortal del ganado vacuno que fue reconocida por primera vez en Gran Bretaña en 1986. Los signos clínicos, la propagación y la transmisión de esta enfermedad indican que se debe a un agente transmisible poco común que se ha denominado de momento prion, para expresar que se trata de una proteína infecciosa. (10)

Ante la emergencia sanitaria mundial por la presencia de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) en continentes distintos al Europeo y la posibilidad de que la (EEB) pudiese ser detectada en el Continente Americano, los gobiernos de Argentina, Brasil, Colombia, Chile, México, Paraguay, Perú y Uruguay, solicitaron a la FAO asistencia técnica para evaluar y fortalecer sus sistemas para prevenir la enfermedad. La FAO aprobó el proyecto TCP/RLA/0177, cuya primera actividad fue la realización de la “Consulta Técnica de Especialistas en EEB”, la cual fue organizada conjuntamente entre el SAG y la FAO. (7)

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) es considerada una zoonosis y enfermedad emergente, y a pesar que no se ha reportado en nuestro país; por la naturaleza de su propagación, en un escenario mundial, con un comercio globalizado, nos plantea tener presente el riesgo de infección por EEB. Esta condición potencial de riesgo, exige estrategias y políticas acordes con un desarrollo sostenible y un enfoque de riesgo. Actualmente México lleva a cabo un programa de vigilancia de neuropatías en rumiantes, el cual consiste por una lado en la recolección de muestras de encéfalo de bovinos, caprinos y ovinos que muestren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva), considerando los aspectos, clínicos, epidemiológicos y evaluación del impacto en la salud humana. (4)

ORIGEN DE LA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

1.1 Origen de la Enfermedad.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina fue confirmada por primera vez en 1986, en el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte y actualmente se encuentra distribuida en la mayor parte de los países de Europa, además de Israel, Japón, Canadá y Estados Unidos. (7)

Hace varias décadas que se conoce que el prión causaba en las ovejas una enfermedad neurológica incurable llamada scrapie, muy extendida en Gran Bretaña. Sin embargo, los despojos de estas ovejas fueron empleados en la elaboración de piensos destinados a la engorda de ganado vacuno en la creencia de que la enfermedad resultaba inofensiva para la especie bovina. Muy al contrario, la enfermedad sí afectó al ganado vacuno. (6)

Considerando que el período de incubación de la enfermedad, entre 3-5 años, un factor que probablemente influyó en la aparición de la enfermedad fue el cambio que se practicó en los sistemas de procesamiento de las harinas de carne y huesos entre 1981-1982, que consistió en la disminución del uso de solventes de hidrocarburos y la disminución de las temperaturas de tratamiento, esto pudo resultar en un aumento de la supervivencia del agente infectante. La infectividad del agente de EEB se ha demostrado en el cerebro, la médula espinal y en la retina de animales afectados en forma natural y además de estos tejidos, en animales infectados experimentalmente se ha demostrado infectividad en el íleon terminal. De acuerdo con el documento de la Organización Mundial de la Salud, con participación de la OIE, la infectividad de los tejidos y fluidos bovinos se ha dividido en cuatro categorías dependiendo del mayor o menor grado de probabilidades de ser infectantes. (12)

Categoría I	Alta infectividad	Cerebro, medula espinal, ojo.
Categoría II	Infectividad media	Bazo, amígdalas, ganglios linfáticos, pituitaria adrenal, duramadre, placenta, colón distal.
Categoría III	Infectividad baja	Nervios periféricos, mucosa nasal, timo, médula ósea, hígado, pulmón, páncreas.
Categoría IV	Infectividad no detectable	Músculo esquelético, corazón, glándula mamaria, sangre, suero, heces, riñón, tiroides, glándula salival, saliva, ovario, útero, testículo, tejidos fetales, calostro, leche, bilis, hueso, cartílago, tejido conectivo, piel, pelo y orina.

Tabla 1: Infectividad de los tejidos. (12)

1.2 Definición.

La Encefalopatía espongiforme bovina (EEB), también llamada popularmente "mal de la vaca loca", es una enfermedad mortal, degenerativa de curso subagudo o crónico, que afecta al sistema nervioso central de los bovinos e impone por razones éticas la eutanasia de los animales afectados. (1)

Es una afección degenerativa del sistema nervioso central de los bovinos incurable, que caracteriza por la aparición de síntomas nerviosos en los animales adultos tanto machos como hembras, que progresivamente concluye con la muerte del animal. (7)

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 entorno a los 4-5 años.

Los síntomas de esta enfermedad están motivados por la acumulación del prion en las células neuronales, originando la muerte celular. Un análisis microscópico revela lesiones como vacuolas que dan al tejido nervioso un aspecto de esponja. (17)

Esta enfermedad pertenece al grupo de enfermedades denominadas Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs) como el Scrapie o Prurigo Lumbar de los ovinos y la Enfermedad Crónica Desgastante de los venados y renos. Se postula que el agente causal de la EEB es el mismo que provoca el Scrapie ovino, el cual logro adaptarse a los bovinos; sin embargo, no ha sido caracterizado completamente y se cree que es una partícula proteica infecciosa (prion) de menor tamaño que un virus. (20)

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 signos clínicos.(14)

PRION

2.1 Etiología.

Su causa parece ser una proteína infecciosa a la que se ha llamado "Prión" carente de ADN, muy resistente al calor, a los rayos ultravioleta y a los desinfectantes químicos que habitualmente inactivan a los virus. 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.

Las vacas se contagiarían al comer piensos elaborados con restos de otros animales. (3)

2.2 Prion: Agente Causal.

El término "prion" es usado para describir el agente infeccioso responsable de las encefalopatías espongiformes transmisibles. La palabra deriva de "proteinaceous infectious particle", definición propuesta por Stanley B. Prusiner. (14)

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 espongiforme debido a la apariencia histopatológica postmortem del cerebro el cual contiene grandes vacuolas (apariencia semejante a una esponja) en la corteza cerebral y cerebelo. (23)

Los priones están presentes 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. (17)

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 lo anterior, 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. (2)

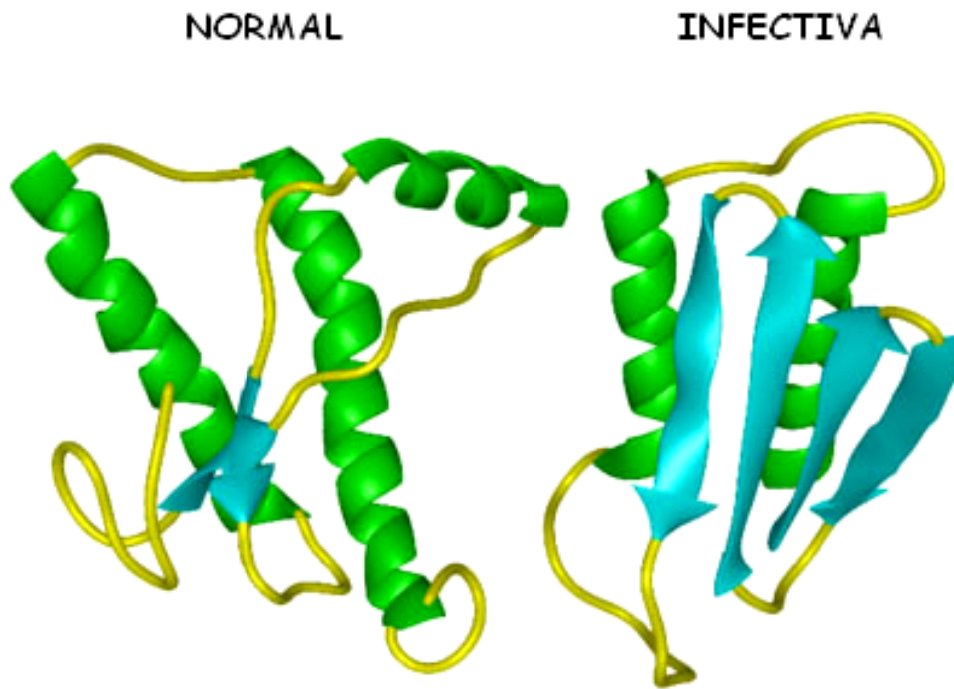


Figura 1: Estructura tridimensional de proteína priónica. (9)

2.3 Características de los Priones.

- Es resistente a tratamientos físicos (calor, luz ultravioleta, radiación ionizante).
- Temperatura: método de inactivación física es de 133°C.
- Es estable en una amplia gama de pH.
- Sobrevive en tejidos cadavéricos.
- Es insoluble y resistente a proteasas.
- No se le ha detectado la presencia de ácidos nucleicos a pesar de que es capaz de replicarse.
- Se acumulan de forma progresiva en el SNC formando estructuras amiloides lo que causa disfunción neurológica y la muerte.
- Desinfectantes: es resistente a muchos desinfectantes que habitualmente inactivan virus. Se recomienda hipoclorito de sodio que contenga 2% de cloro disponible o hidróxido de sodio 2N, aplicado durante más de una hora a 20°C para superficies o por una noche para materiales. (21)

2.4 Neuroinvasión del Prion.

Se denomina neuroinvasión al proceso por el cual los priones migran desde el sitio de inoculación, por ejemplo, el aparato digestivo (ingesta de derivados bovinos contaminados), hasta el sistema nervioso central donde causan la sintomatología y la alteración histológica clásica de estas enfermedades.(2)

Los datos sugieren que la invasión por el prión se produce en dos etapas:

La primera de ellas (linfoinvasión) comprende el pasaje a través de la mucosa gastrointestinal, aparentemente a nivel de las placas de Peyer del intestino. Las células linfáticas que fagocitan al prión, viajan a otros órganos como el bazo, las tonsilas o los linfonódulos. En esos órganos, que están bien inervados, tiene lugar la primera replicación de la isoforma anormal PrP^{sc}. Para que la infección desde tejidos periféricos tenga éxito, estos deben expresar el gen PrP.

En una segunda etapa (neuroinvasión), la PrP^{sc} asciende retrógradamente por los axones que inervan a estos órganos linfáticos, alcanzado la médula espinal y finalmente al encéfalo. A pesar de ser escasos los datos sobre esta etapa de la propagación del prión, se ha demostrado la utilización de los nervios del sistema nervioso autónomo para la propagación del prión.

Ambas etapas dependen de la presencia de linfocitos B. Se postula que su función principal es el mantenimiento de las células dendríticas foliculares del bazo y de los linfonódulos, por la producción de la linfoxina- β . (2)

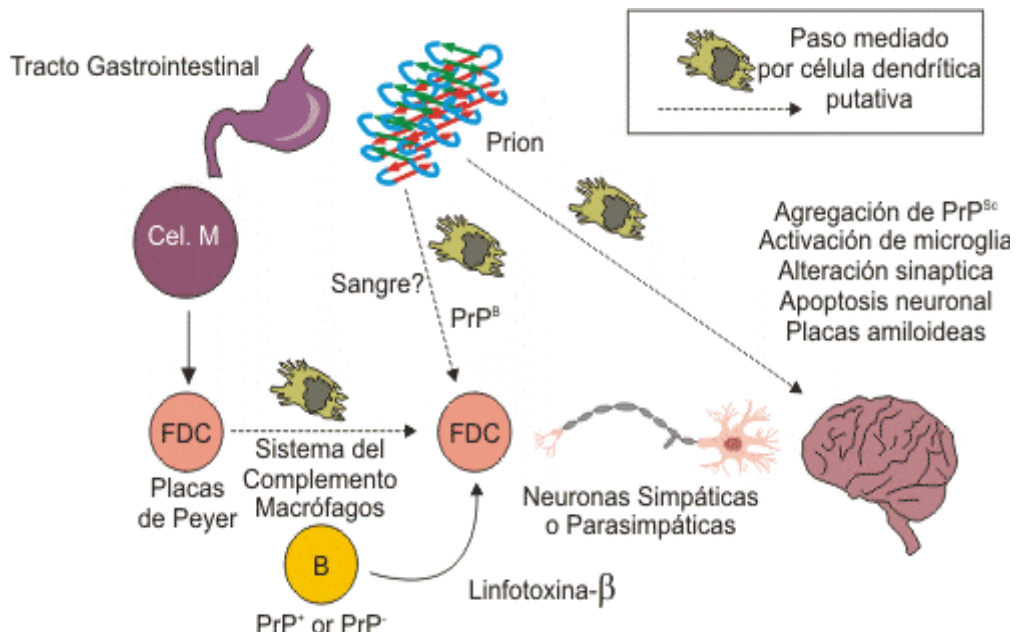


Figura 2: Neuroinvasión: Las enfermedades prionicas tales como el Scrapie se manifiestan como una afección del SNC. Luego de ingresar por la vía digestiva el prion debe atravesar el epitelio intestinal, probablemente a través de las células M. Antes de llegar al cerebro ellos colonizan varios órganos. Los experimentos de Aucouturier y colaboradores, indican que las células dendríticas foliculares aisladas de bazo de ratones infectados pueden inducir la enfermedad cuando son inyectados intravenosamente en ratones inmunodeficientes Rag-1+, sugiriendo a las células dendríticas como posible ruta para la neuroinvasión. (2)

TRANSMISION DE LA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

3.1 Factores predisponentes.

A finales de los 80s Cols y Well descubrieron cambios espongiiformes en el cerebro de una vaca afectada de EEB. El origen de la epidemia de la EEB podría estar relacionado con un cambio en el proceso de la explotación ganadera a principios de los 80. De forma que los priones de la EEB no fueron inactivados antes de alimentar a los bovinos con carne y huesos procedentes de otros animales infectados. (6)

En la Gran Bretaña se suspendió en los 80s, el tratamiento de extracción de grasa con solventes hidrocarbonados (hexano) en la elaboración de harinas de carne y hueso, se cambio el proceso utilizando sistemas de bajas temperaturas. (10)

A principios de los 80s se incremento la población de ganado ovino en la Gran Bretaña en un 16%, por lo que aumento el número de rebaños infectados con Scrapie, por la tanto el número de ovejas infectadas con esta enfermedad, las cuales se incluyeron en la elaboración de harinas de carne y hueso. (11)

Los científicos creen que esta enfermedad se transmite a los bovinos por la alimentación con desechos de animales procesados de bovinos u ovinos infectados. El prion es resistente a los procesamientos comerciales de desactivación tales como el tratamiento térmico. (1)

El ganado lechero es mas susceptible a esta enfermedad que le ganado de carne, ya que le ganado lechero recibe más raciones concentradas que pueden contener harina de carne y huesos. (10)

3.2 Transmisión.

La hipótesis que se ha aceptado como cierta es que la enfermedad ha llegado al ganado vacuno a través de los piensos empleados en su alimentación. Hace varias décadas que se conoce que el prión causaba en las ovejas una enfermedad neurológica incurable llamada scrapie, muy extendida en Gran Bretaña. Sin embargo, los desechos de estas ovejas fueron empleados en la elaboración de piensos destinados al engorde de ganado vacuno en la creencia de que la enfermedad resultaba inofensiva para la especie bovina. Muy al contrario, la enfermedad sí afectó al ganado vacuno. (4)

La EEB sí ha traspasado la barrera entre especies y ha infectado a las personas a través del consumo de material de riesgo proveniente de vacas que padecen la enfermedad. (16)

Las investigaciones epidemiológicas realizadas, descartaron el contacto directo entre bovino y ovejas, como una fuente de exposición a la infección para el ganado. Por otra parte, los estudios realizados en la Gran Bretaña, no han informado la transmisión horizontal de la EEB entre ganado sano y ganado enfermo y por lo tanto animales importados, no pueden ser referidos como una fuente de infección para el ganado nativo, excepto que sus despojos hayan sido utilizados en la alimentación animal. (12)

La EEB bajo condiciones naturales no parece transmitirse verticalmente, sin embargo, se sigue investigando esta posibilidad realizando transferencia de embriones y siguiendo cuidadosamente la salud de animales descendientes de vacas donde fue confirmada la EEB.

No hay predisposición de sexo ni raza para esta enfermedad. (8)

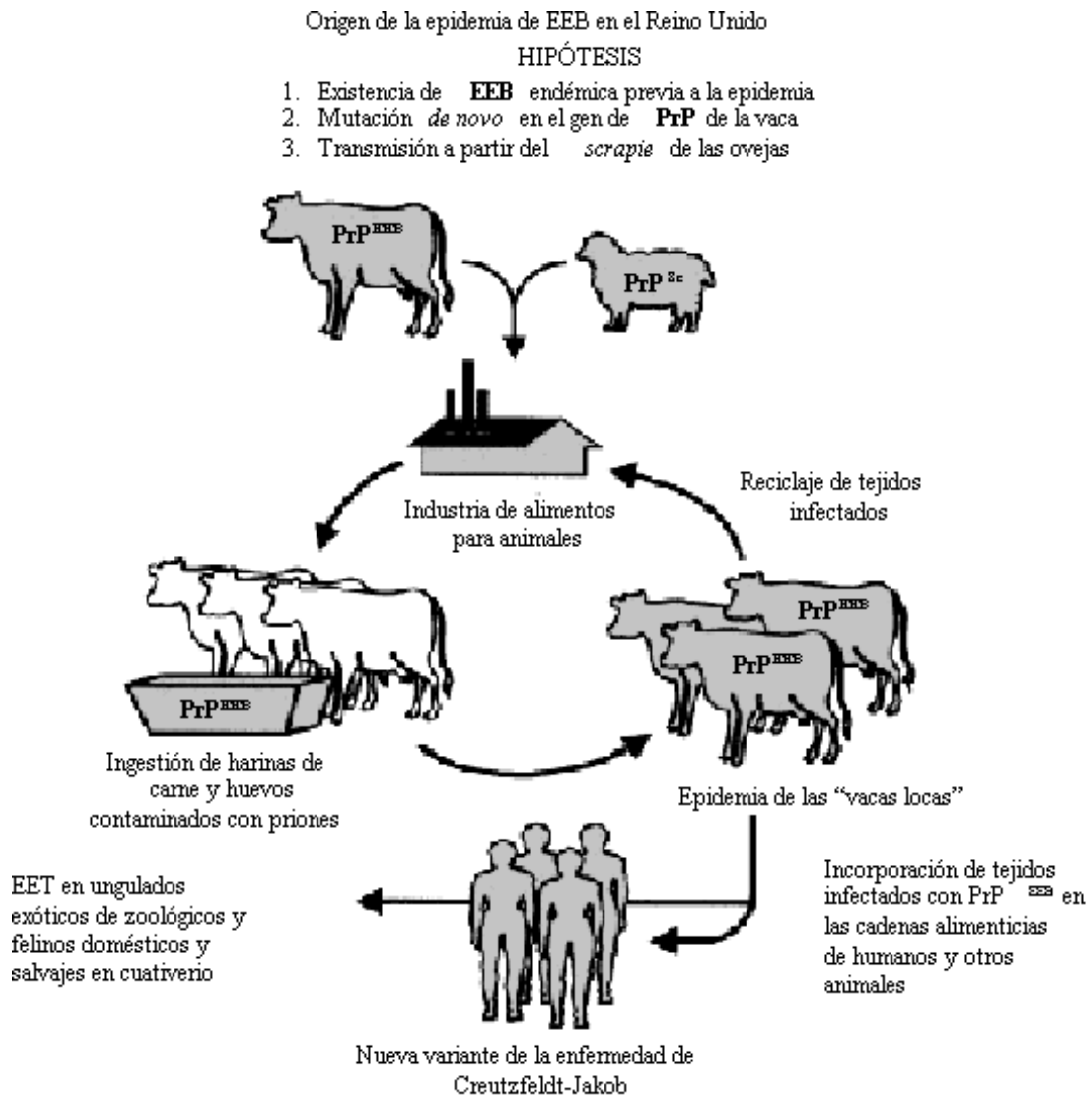


Figura 3: Origen de la epidemia de EEB en Reino Unido. (13)

3.3 Huésped.

La encefalopatía Espongiforme Bovina en condiciones naturales, afecta tanto al ganado de leche como al ganado de carne, aunque se presenta con mayor frecuencia en el ganado productor de leche debido a que este recibe más raciones concentradas que pueden contener harinas de carne y huesos. (10)

3.4 Cuadro Clínico.

3.4.1 Periodo de Incubación.

El promedio de edad de aparición de la EEB es de 5 años, con un rango que varía de los 2 años hasta el límite de vida comercial del ganado. (18)

El periodo de incubación es de 3 a 5 años. En condiciones experimentales, se puede inocular la enfermedad en bovinos de 5 meses, observando los primeros síntomas después de un periodo de 37 semanas. (18)

3.4.2 Signos Clínicos.

Dado que los signos clínicos aparecen a partir de los 3 a 5 años, la EEB solo se puede observar en animales adultos. Los signos pueden durar de 1 a 6 meses o hasta más de un año. Los signos nerviosos de los animales afectados se pueden dividir en tres aspectos:

- a) **Comportamiento:** Nervioso, miedo, cambio de comportamiento hacia la gente conocida (agresividad), incremento en el lamido de la nariz y sacudido de la cabeza, patadas, alteración del estado social en el hato.
- b) **Sensibilidad:** Hipersensibilidad al sonido, luz, tacto, especialmente de la cabeza y cuello. El animal patea al ser tocado en sus extremidades.
- c) **Postura y movimientos:** postura anormal de la cabeza, dificultad para levantarse, ataxia, debilidad muscular espontánea, marcha insegura, caídas continuas.

Se puede concluir que los signos más frecuentes en los tres grupos son: aprensión, frenesí, ataxia, temblores, caídas, hiperestesia táctil y auditiva, posición anormal de la cabeza y agresividad. (20)

Signos no neurológicos: Otros signos menos frecuentes son la disminución de la producción láctea, pérdida de la condición corporal, exoftalmos, salivación, lacrimación, actitud de lamer los objetos.

Todos los estudios concuerdan que la enfermedad se presenta repentinamente en animales adultos, de cualquier raza y sexo, y que el cuadro clínico puede variar ligeramente de unos animales a otros. Además de la signología ya mencionada se han detectado de forma más inconstante los siguientes signos: pérdida rápida de la condición corporal, aun conservando el apetito, descenso en la producción de leche y rigidez de las orejas. (9)

3.5 Lesiones.

Las lesiones que provocan las EET se producen únicamente a nivel del sistema nervioso central. Concretamente en la EEB se inicia en los núcleos del tronco del encéfalo, principalmente en la zona del puente y bulbo raquídeo o medula oblongada, afectando principalmente al núcleo del tracto espinal del nervio trigémino. sin embargo, en el examen histológico se observa un incremento en número y en tamaño de los astrocitos, vacuolización neuronal, que consiste en acumulación de vacuolas simples o múltiples en el citoplasma de las células, precisamente por el aspecto de esponja que presenta el cerebro infectado son denominados espongiiformes. (15)

La encefalopatía Espongiforme Bovina no presenta lesiones macroscópicas significativas, las alteraciones más importantes solo son más apreciables mediante el estudio histopatológico del Sistema Nervioso Central, en el que domina un cuadro de degeneración espongiiforme.

Las lesiones más significativas son los cambios degenerativos bilaterales y simétricos en la materia gris del tallo cerebral y en el neurópilo se encuentran numerosas microcavidades que recuerdan la imagen de una esponja, lo que se conoce como degeneración espongiiforme. Estas microcavidades pueden ser simples o múltiples y presentar una forma ovalada o esférica. (20)

Las lesiones que se observan en animales afectados por EEB, se localizan simétricamente en determinados centros nerviosos, especialmente en la medula oblonga, siendo el núcleo dorsal del nervio vago, núcleo del tracto solitario y del tracto espinal del nervio trigémino, los frecuentemente afectados.

Es de destacar que las encefalopatías no se acompañan de lesiones inflamatorias: no aparece encefalitis. (22)

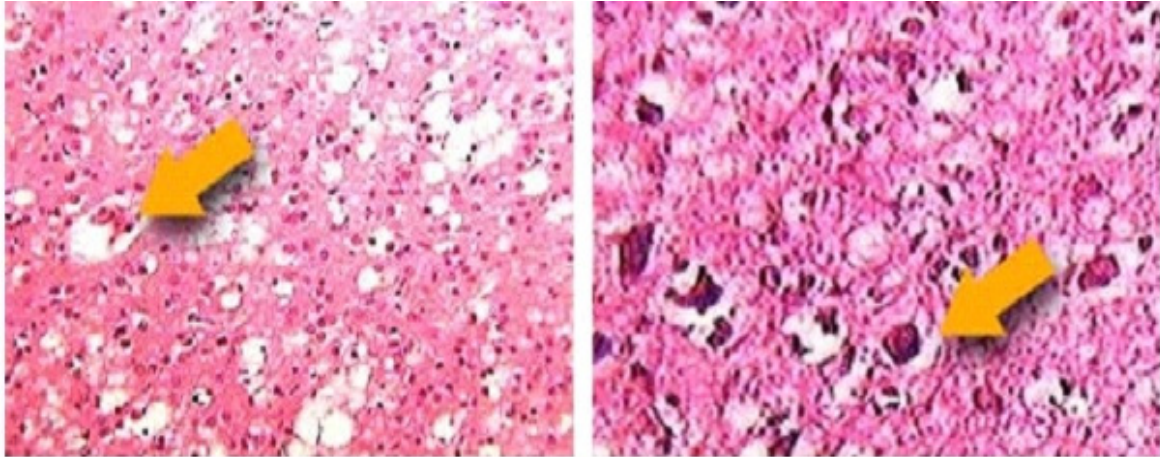


Figura 4: histopatología de un cerebro de bovino afectado con EEB. (9)

3.5.1 Topografía de las Lesiones de EEB.

Las lesiones de EEB 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 medula espinal, corteza cerebral o cerebelo. (24)

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 medula espinal.

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

No puede existir correlación entre absoluta entre la gravedad de los síntomas y la severidad de las lesiones. (24)

3.6 Diagnostico.

La manera de confirmar la enfermedad es a través de la observación microscópica del tejido nervioso central del animal muerto o sacrificado, mediante la observación de las lesiones específicas, reconfirmando la misma con una prueba inmunoquímica (Western blot), y/o Inmunohistoquímicas, para determinar la presencia de la proteína prion modificada PrP^{Sc}. Hasta el presente no existe ninguna prueba preclínica, o que pueda utilizarse para realizar el diagnóstico en el animal vivo. El 99.6 % de los casos positivos a EEB pueden confirmarse examinando una sección de la medula o bulbo raquídeo. (19)

3.6.1 Western Blot (WB).

La PrP^{Sc} también puede ser detectada mediante la extracción y purificación de la proteína proveniente de tejido cerebral fresco o congelado, para este propósito la parte de cerebro elegida es la parte de tronco del encéfalo caudal.

La fracción proteica se purifica mediante el tratamiento con proteinasa K y después se separa mediante electroforesis en un gel de poliacrilamida, que se trasfiere a un papel de nitrocelulosa. Dicho papel es enfrentado a anticuerpos anti PrP^{Sc} específicos, conjugados con peroxidasa.(9)

3.6.2 Inmunohistoquímico.

Este tipo de prueba pretende poner en evidencia la PrP^{Sc}, ya que hemos visto puede ser parte del agente infeccioso en sí mismo. Se puede emplear el mismo cerebro fijado con formol utilizado para el estudio anatomopatológico.

La exposición de los epitopos de PrP^{Sc} puede aumentarse tratando las muestras con calor tras ser cortadas del bloque de parafina y fijadas con formol, puede destruir la agregación de la proteína debida al ceso. Un anticuerpo dirigido contra PrP^{Sc} conjugado con peroxidasa se aplica en la sección desnaturalizada.(9)

3.6.3 Elisa

En la mayoría de las infecciones, el ELISA se presenta como una alternativa muy adecuada para examinar un elevado número de muestras rápidamente y con un grado de sensibilidad alto, sin embargo, para la EEB todavía no se optimizó una prueba de Elisa que haya reunido la aprobación general. La prueba de ELISA que goza de mayor aceptación es la propuesta por el equipo de Holanda, se utilizan anticuerpos anti-PrP específicos y aprovecha la resistencia parcial de la PrPsc a la proteasa y el aumento de la inmuno-reactividad de la PrPsc ante la desnaturalización. (9)

3.6.4 Diagnostico diferencial.

- Rabia
- Listeriosis
- Meningoencefalitis tromboembólica
- Enfermedad de Aujeszky
- Intoxicación por plantas y químicos
- Deficiencias minerales (Síndrome de la vaca caída) (5)

3.7 Tratamiento

No existe ningún tratamiento eficaz procediendo al aislamiento y sacrificio de los animales sospechosos se debe evitar dañar el tejido cerebral que se utilizará para el diagnóstico. (10)

3.8 Prevención.

La única fuente de infección que hasta el momento se conoce, son los alientos concentrados que contienen harinas de carne y huesos contaminados con el agente del Scrapie. No se ha encontrado ningún elemento que respalde la transmisión horizontal de bovino a bovino, a la vertical de padres a hijos. (4)

Existen dos formas en la que los países libres de EEB podrían ser afectados.

- A través de la importación de animales vivos o de alimentos concentrados contaminados de Scrapie, o de EEB de otros países.
- Permitiendo que el Scrapie de un país, afecte a su ganado vacuno. Por lo tanto, la EEB puede ser prevenida mediante una reglamentación sanitaria de las autoridades de Salud Animal, que prevea las dos estas dos circunstancias. (20)

3.8.1 Reglamento establecido en los países afectados para el control y erradicación de la EEB.

- La EEB es considerada como enfermedad de declaración obligatoria.
- Se prohíbe la utilización de proteínas procedentes de rumiantes, en la alimentación de rumiantes.
- Sacrificio de todo animal sospechoso de padecer EEB y destrucción de los cadáveres.
- Aprobación de una compensación económica por sacrificio que cubra el 50% del valor del animal en el mercado.
- Orden de destrucción de la leche procedente de vacas afectadas de EEB.
- Prohibición total para el consumo humano de cerebro, médula espinal, bazo, tonsilas e intestino vacuno, excluidos los procedentes de terneros menores de 6 meses.
- Los ganaderos deben de mantener por lo menos durante 10 años los registros de sus animales relativos a raza, sexo, número de identificación y fecha de nacimiento de cada ternera y así como registros de movilización animal.
- Recomendación a los fabricantes de medicamentos, cosméticos y alimentos infantiles para que excluyan de sus productos los derivados de origen rumiante. (20)

3.9 Situación actual en México de la EEB.

México se encuentra libre de la 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).

El SENASICA (CPA) de la SAGARPA ha implementado una serie de medidas para evitar la entrada de la EEB al país:

- Restricciones a la importación de rumiantes vivos, productos y subproductos, procedentes de países afectados o de riesgo indeterminado.
- Los casos clínicos de enfermedad nerviosa en bovinos, son de denuncia obligatoria inmediata y sometida a examen de laboratorio.
- Publicación de la Norma Oficial Mexicana NOM-061-ZOO-1999, Especificaciones zoosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal.
- Publicación de la Norma Oficial Mexicana NOM-060-ZOO-1999, Especificaciones zoosanitarias para la transformación de despojos animales y su empleo en la alimentación animal.

Estas normas indican que:

“Queda prohibida la utilización de harinas de carne y hueso de origen rumiante en la elaboración de alimentos balanceados para rumiantes”. (5)

HIPOTESIS

La región de Torreón, Coahuila se encuentra libre de Encefalopatía Espongiforme Bovina, a pesar que existe una constante entrada de ganado principalmente de la raza holstein (ganado lechero) procedente de Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, debido a una estrecha supervisión de la CPA y demás dependencias encargadas de ellos.

Hasta ahora no se han reportado casos positivos de EEB en los tallos cerebrales recolectados y analizados por la técnica de histopatología 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 (barreras de protección zoonosanitarias).

MATERIALES Y METODO

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.
- Bolsa hermética (ziploc)
- Plumón indeleble.
- Hielera de tamaño adecuado. (5)



Fotografía 1: Cuchara especial para la obtención del tallo cerebral. (5)

Procedimiento:

1.- 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. (5)



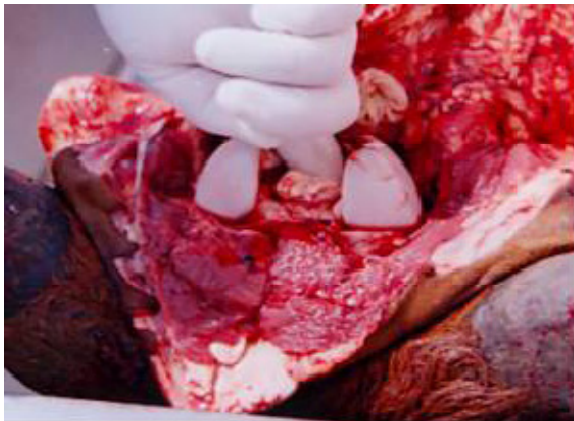
Fotografía 2 (5)



Fotografía 3 (5)

En las fotografías 2,3: se puede observar la forma adecuada de poner la cabeza del bovino sobre una mesa (decúbito) para la correcta extracción del tallo cerebral.

2.- Separar los pares craneales con un dedo o con la ayuda de las pinzas de ratón y tijeras. (5)

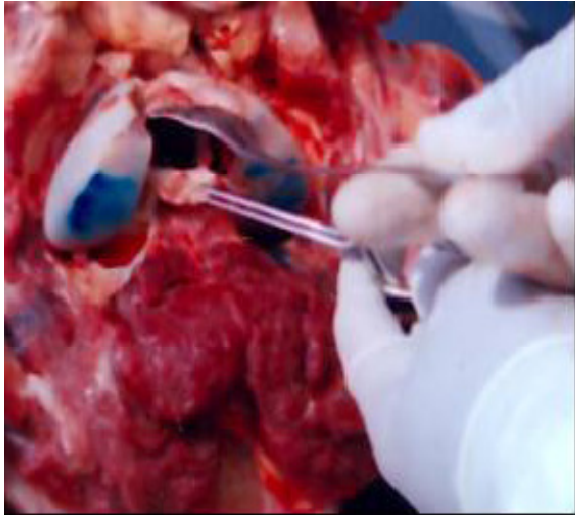


Fotografía 4 (5)

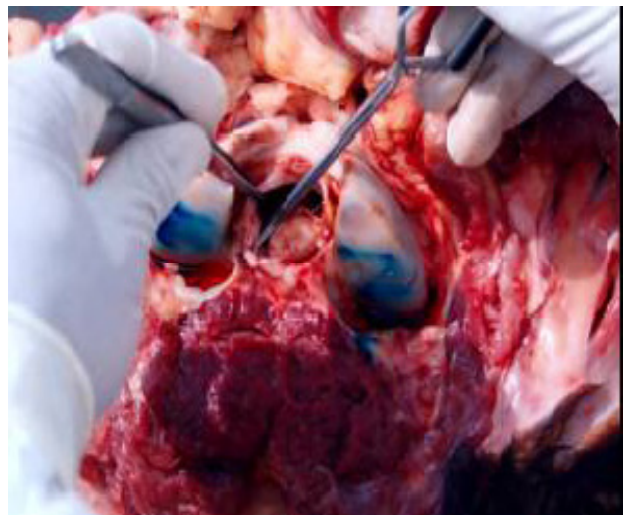


Fotografía 5 (5)

En las fotografías 4,5: se puede observar cómo se separan los pares craneales con la ayuda del dedo índice.



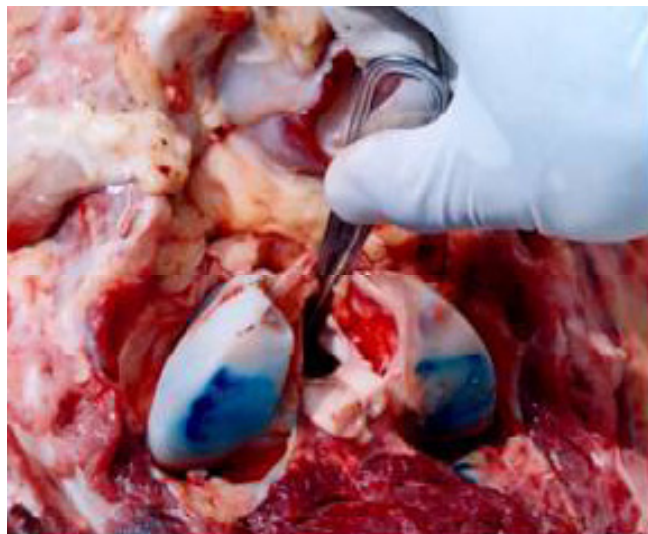
Fotografía 6 (5)



Fotografía 7 (5)

En las fotografías 6,7: se observa cómo se separan los pares craneales con ayuda de las pinzas de ratón y con unas tijeras rectas.

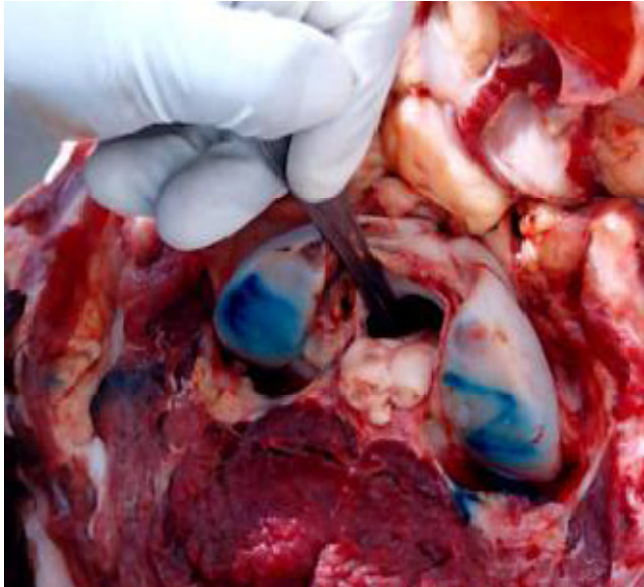
3.- Introducir la cucharilla a través de la parte superior del agujero magno con la punta hacia abajo. (5)



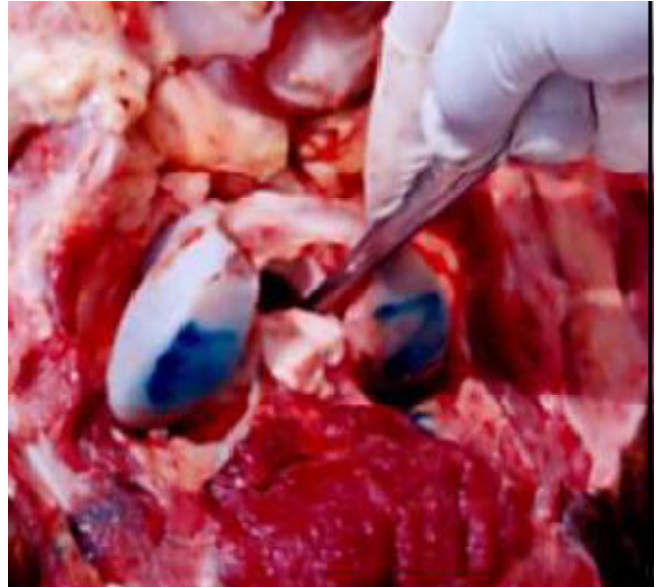
Fotografía 8 (5)

En esta fotografía se puede observar cómo se introduce la cuchara con la punta hacia abajo, por la parte superior del foramen.

4.- 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. (5)



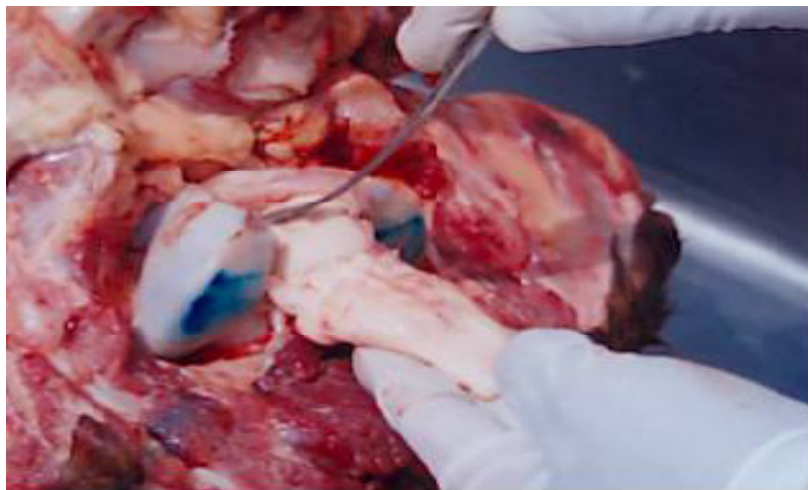
Fotografía 9 (5)



Fotografía 10 (5)

En las fotografías 9,10: se observa el giro de 180° que se le debe de dar a la cuchara una vez introducida a la izquierda como a la derecha.

5.- Extraer la cucharilla obteniendo únicamente el puente y la médula oblonga con el óbex. (5)



Fotografía 11(5)

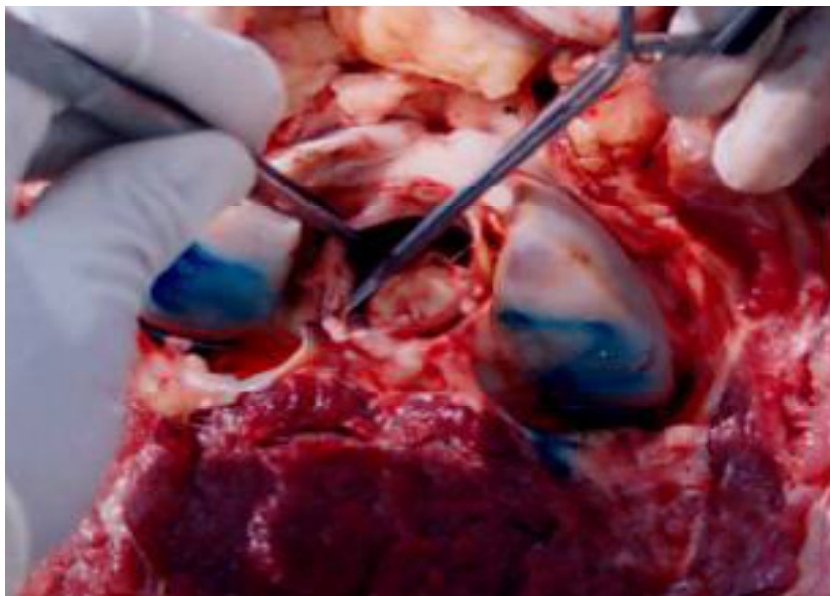
En esta fotografía podemos observar cómo se extrae el tallo cerebral con la ayuda de la cuchara.



Fotografía 12 (5)

Aquí se presentan diferentes tallos cerebrales, la forma en que pueden ser extraídos.

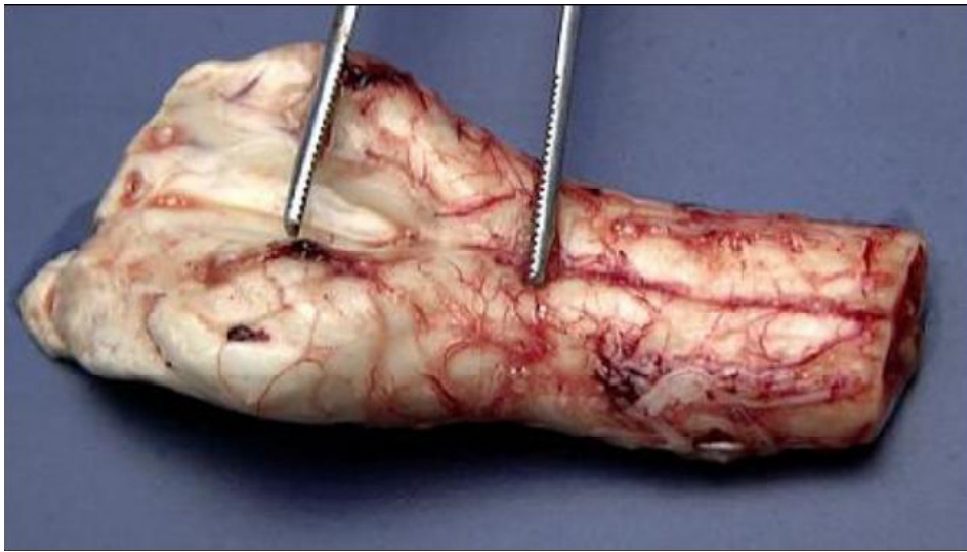
6.- En caso de atorarse, desprender con pinzas y tijeras los nervios craneales XII, XI y X (hipogloso, espinal accesorio y vago) de las meninges y retirar el tallo cerebral. (5)



Fotografía 13 (5)

En caso de tener alguna complicación con la extracción del tallo cerebral, con ayuda de las pinzas y tijeras desprender los pares craneales, para su extracción.

7.- En caso de encontrar coágulos alrededor del tallo cerebral, eliminarlos con pinzas o tijeras. (5)



Fotografía 14 (5)

El tallo cerebral debe de estar limpio de coágulos de sangre, en caso de tenerlos retirarlos con ayuda de pinzas o tijeras.

5.2 Envió de muestras a Laboratorio.

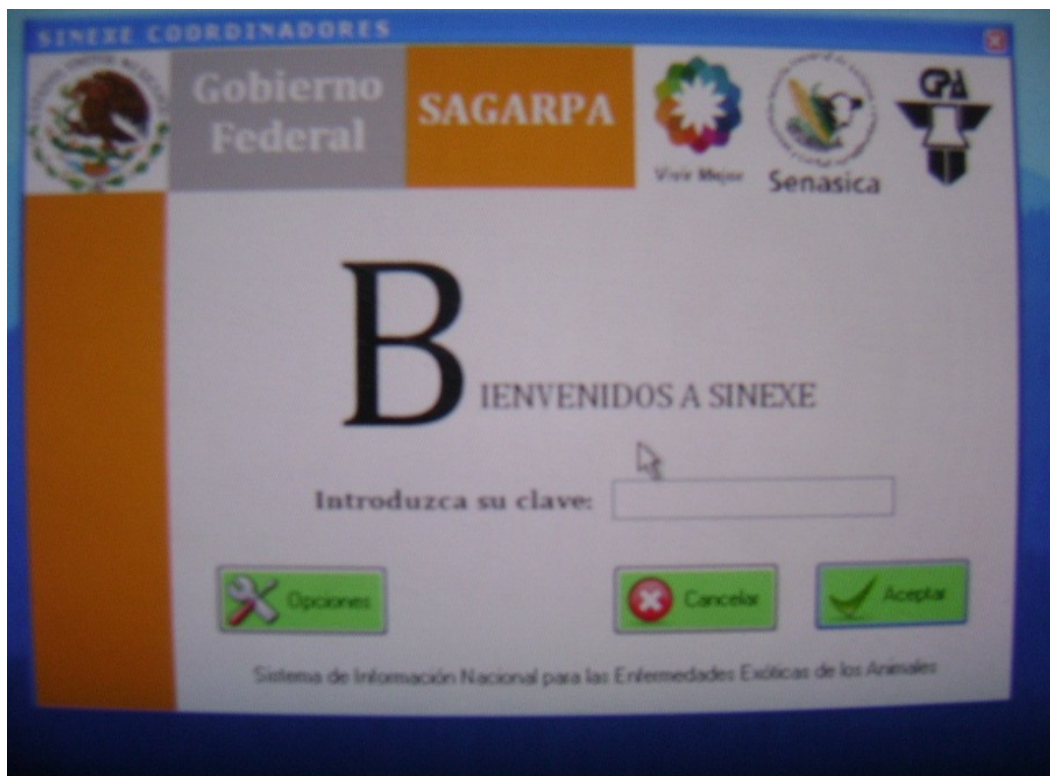
Las muestras de tallo cerebral se almacenan en unas bolsas de cierre hermético (ziploc) identificándolas con un plumón indeleble, asignándole un número correspondiente, para ser enviadas al laboratorio. Estas muestras son conservadas en refrigeración dentro de una hielera.



Fotografía 15

Los tallos cerebrales deben ser depositados en bolsa de cierre hermético con su previa identificación y almacenados en una hielera.

Cada muestra colectada deberá incluir la información epidemiológica por medio del sistema para el envío de muestras CPA-ST-F048 de vigilancia epidemiológica de la EEB; identificados con el mismo número utilizado en las muestras en refrigeración.



Fotografía 16: pagina del sistema CPA-ST-F048 de vigilancia epidemiológica de la EEB.

**COMISION MEXICO-ESTADOS UNIDOS PARA LA PREVNECION
DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ENFERMEDADES EXOTICAS
EN LOS ANIMALES. (CPA).**

RESULTADOS

En el siguiente cuadro se puede observar los resultados del laboratorio de los tallos cerebrales enviados para el diagnóstico de EEB mediante histopatología en la región de Torreón, Coahuila.

Estas muestras fueron tomadas en el rastro municipal planta Tif (243) en Torreón, Coahuila.

REGION	TOTAL DE MUESTRAS ENVIADAS AL LABORATORIO	NUMERO DE CASOS POSITIVOS	NUMERO DE CASOS NEGATIVOS
TORREON, COAH. Planta Tif (243)	683	0	683

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la región de Torreón, Coahuila 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 ha prohibido 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 de tallos cerebrales en encéfalos enviados, imposibilitan el diagnóstico de EEB por histopatología, por tanto se debe tener conocimiento de la técnica para así, obtener el encéfalo completo.

GLOSARIO

EEB: Encefalopatía Espongiforme Bovina.

Prion: Pequeña partícula proteica infecciosa, las cuales son resistentes a la inactivación que modifican los ácidos nucleicos.

Pienso: Alimento elaborado para el ganado el cual se obtiene de las mezclas de productos de origen vegetal o animal en su estado natural, frescos o conservados, o de sustancias orgánicas o inorgánicas, contengan o no aditivos, que estén destinados a la alimentación animal por vía oral en forma de piensos completos o de piensos complementarios.

Solventes: Son compuestos orgánicos basados en el elemento químico Carbono. Ellos producen efectos similares a los del alcohol o los anestésicos. Estos efectos se producen a través de la inhalación de sus vapores.

Infectividad: La capacidad de una agente patógeno (prion) para invadir un organismo y provocar lesiones irreversibles.

Vacuolas: Lesiones del tejido nervioso que le da aspecto de esponja.

EETs: Encefalopatías Espongiformes Transmisibles.

PrPc: Proteína normal.

PrP^o: Isoforma aberrante.

PrPsc: Proteína anormal.

Inoculación: Introducción, transmisión, de un prion a un organismo.

Neuroinvasión: Proceso por el cual los priones migran al sitio de inoculación.

Frenesí: Delirio, el animal esta exaltado, perturbado.

Hiperestesia: el animal tiene una sensibilidad excesiva y dolorosa al tacto y a la audición.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- B. W. Brunelle, A. N. Hamir, T. Baron, A. G. Biacabe, Polymorphisms of the prion gene promoter region that influence classical bovine spongiform encephalopathy susceptibility are not applicable to other transmissible spongiform encephalopathies in cattle, journal animal science, aug, 20, 2007.
- 2.- Carlos Pacífico y Jorge Miguel Galotta, Enfermedades por Priones, Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos Vol. 20 – 2002.
- 3.- Cohen T Joshua, Duggar Keith, Evaluation of the potential of bovine spongiform encephalopathy in the United States Center computational epidemiology collage of veterinary medicine Tuskegee, 2001, P 1-102.
- 4.- Comisión de Enfermedades Transmisibles del Comité de Salud Pública del CMP – 23 de Setiembre de 2006, La Encefalopatía Espongiforme Bovina o el mal de las Vacas Locas, septiembre 23 de 2006.
- 5.- Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales. 1995, manual para la toma de muestras de Encefalopatía Espongiforme Bovina y Scrapie, México, D.F.
- 6.- Compendio elaborado por la Sección de Ciencias de la Carne en el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad de Texas, Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), NMA Resource, February, 2004.
- 7.- Consulta Técnica sobre Encefalopatía Espongiforme Bovina, FAO, Santiago de Chile, enero de 2003.
- 8.- Correa Girón Pablo, Enfermedad de las Vacas Locas, Encefalopatía Espongiforme Bovina, Reunión Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarios, Cenin-Microbiología, P 1-4.

- 9.- Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, FAO, Diagnósticos de laboratorios, mayo de 2006.
- 10.- Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, OIE, Código Sanitario para los Animales Terrestres, 2007.
- 11.- Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, Cresa, 2004.
- 12.- Héctor E. González Ch, Encefalopatía Espongiforme Bovina, ICA-CEISA, Bogotá, Colombia, 2000.
13. http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://farm3.static.flickr.com/2028/2471944168_2377f4823e_m.jpg&imgrefurl=http://lospriones.html&usg=__G5NSCICFBuwbcMEofTbeCxaz90=&h=191&w=240&sz=34&hl=es&start=9&um=1&itbs=1&tbnid=psBNBM9wkCu1nM:&tbnh=88&tbnw=110&prev=/images%3Fq%3Dencefalopatia%2Bespongiforme%2Bbovina%26um%3D1%26hl%3Des%26sa%3DN%26tbs%3Disc.
- 14.- <Http://www.veterinaria.org/revistas/vetentinflbsd/prion/priones.htm>.
- 15.- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 2000, Enfermedades Exóticas de los Animales. P 120-125.
- 16.- Jorge E Delgado-Hachmeister, MC, M Sigfrido Rangel-Frausto, MC, Samuel Ponce de León, MC, Encefalopatías espongiformes Transmisibles, Salud Publica México 2002: 44; 69-75.
- 17.- MB, López Álvarez, Hawkins González, Encefalopatías Espongiformes o Enfermedades Causadas por Priones, Centro de Salud de Goya, España, Unidad Docente de la Santiago Compostela, Septiembre de 2001, Pp. 434-437.
- 18.- Merck Co, Inc. El Manual de Merck de Veterinaria, Quinta Edición, Editorial Océano, Barcelona, España, año 2000, Pp. 1006-1007, 1009.

19.- Pattison JR, Bovine Spongiform Encephalopathy, Infect Dis Review, I: 119-121,1999.

20.- Ricardo Moreno, Liliana Valdez Vázquez, Nueva Enfermedad en los Bovinos, Encefalopatía Espongiforme, Laboratorio de Microbiología Experimental, Departamento de Virología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 045510, México, D.F.

21.- S. Hesketh, J. Sassoon, R. Knight, J. Hopkins and D. R. Brown, Elevated manganese levels in blood and central nervous system occur before onset of clinical signs in scrapie and bovine spongiform encephalopathy, Journal Animal Science, feb, 12, 2007.

22.- Vargas AM, Solto R, Sola MM, Hortelando P, Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, Beses Moleculares, Diagnostico y Perspectivos Terapéuticos, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España.

23.- Web de la AEPap, Equipo de redactores de preguntas y respuestas para padres, Encefalopatía Espongiforme (enfermedad de las vacas locas), febrero de 2001.

24.- [www. Producción-animal.com.ar](http://www.Producción-animal.com.ar), Encefalopatía Espongiforme Bovina, Senasa, 2006.