

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MONITOREO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME
BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GÓMEZ PALACIO, DGO.**

POR

AGUSTÍN DE JESÚS VALLES CENTENO

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MONITOREO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME
BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GÓMEZ PALACIO, DGO.**

MONOGRAFÍA

POR

AGUSTÍN DE JESÚS VALLES CENTENO

ASESOR PRINCIPAL:

M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS

COLABORADORES:

M.V.Z. JOSÉ LUIS GÜEMES JIMÉNEZ

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**MONITOREO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME
BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GÓMEZ PALACIO, DGO.**

MONOGRAFÍA POR:

AGUSTÍN DE JESÚS VALLES CENTENO

ASESOR PRINCIPAL

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser 'JLSE', escrita sobre una línea horizontal.

M.C. JOSÉ LUIS FRANSISCO SANDOVAL ELIAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**MONITOREO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME
BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GÓMEZ PALACIO, DGO.**

MONOGRAFÍA POR:

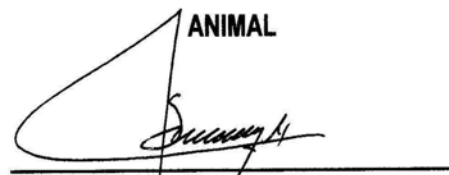
AGUSTÍN DE JESÚS VALLES CENTENO

ASESOR PRINCIPAL

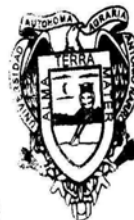


M.C. JOSÉ LUIS FRANSISCO SANDOVAL ELIAS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA

ANIMAL


M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



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

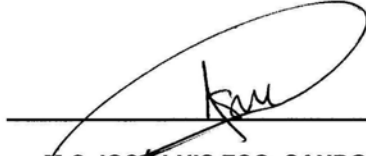
Torreón, Coahuila, México

Junio del 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Presidente del Jurado



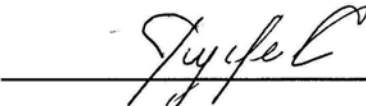
M.C. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS

Vocal



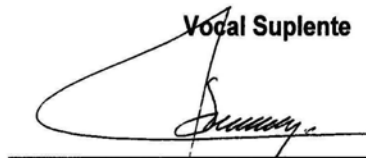
M.V.Z. JOSÉ LUIS GÜEMES JIMÉNEZ

Vocal



M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

Vocal Suplente



M.V.Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

ÍNDICE

RESUMEN.....	pg.III
INTRODUCCIÓN.....	pg. 1
CAPÍTULO I	
LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES	
1.1 Definición.....	pg. 2
1.2 Encefalopatías Espongiformes Transmisibles más importantes.....	pg. 3
CAPÍTULO II	
ORIGEN DE LA ENFERMEDAD	
2.1 Clasificación del agente causal.....	pg. 4
2.2 Prión: Agente causal de la enfermedad.....	pg. 4
2.3 Diseminación Proteica.....	pg. 6
CAPÍTULO III	
CAUSAS QUE PROVOCAN LA TRANSMISIÓN DE EEB	
3.1 Factores predisponentes.....	pg. 8
3.2 Transmisión.....	pg. 9
3.3 Huésped.....	pg. 10
3.4 Cuadro Clínico	
3.4.1 Incubación.....	pg. 10
3.4.2 Signos Clínicos.....	pg. 10
3.5 Lesiones.....	pg. 11
3.5.1 Topografía de las Lesiones de EEB.....	pg. 12
3.6 Diagnóstico.....	pg. 14
3.7 Tratamiento.....	pg. 16
3.8 Control y erradicación.....	pg. 16

CAPÍTULO IV

OBTENCIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE MUESTRAS

4.1 Obtención del tallo cerebral en rastro (técnica de la cucharilla)..... pg. 18

4.2 Empaque y envío de muestras..... pg. 24

CAPÍTULO V

ANEXOS..... pg. 25

BIBLIOGRAFÍA..... pg. 26

RESUMEN

Para detectar la posible presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), en el municipio de Gómez Palacio, Dgo. Se tomó un total de 1012 muestras de tallo cerebral, en un periodo de 5 meses, de bovinos en el Rastro Municipal “Ernesto Herrera Zavala”, en el rastro privado “Promotora Pecuaria del Norte S.A. de C.V.” y la planta Tipo Inspección Federal (TIF) 430, ubicados en dicho municipio, los tallos cerebrales se enviaron al laboratorio de alta seguridad de la Comisión México-Estados Unidos para la Prevención de 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 tallos cerebrales enviados.

Palabras Clave:

- **Encefalopatía**
- **Prión**
- **Prurigo**
- **Glicoproteína**
- **Linfotoxina**

INTRODUCCIÓN

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 la incertidumbre sobre los posibles riesgos asociados a las importaciones anteriores a esa fecha de bovinos y productos derivados de los animales procedentes de países afectados por la EEB (1).

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 asistieron 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 Cretzfeldt-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, a la recolección de muestras de encéfalos de bovinos, ovinos y caprinos que muestren signos de la enfermedad nerviosa (vigilancia pasiva) (1).

CAPÍTULO I

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 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 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 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 priónicas, 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 (20).

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 (3).

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 (1).

La enfermedad está causada por un agente transmisible no convencional que es una proteína infecciosa denominada “**prion**” (6).

Esta enfermedad se caracteriza por tener un periodo de incubación en torno a los 4 o 5 años (5).

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 (6).

La vía de transmisión de esta enfermedad conocida hasta la fecha es la ingesta de alimentos contaminados con el prión. Además la información científica de la que se dispone indica que existe un riesgo de transmisión de la madre afectada a los terneros nacidos de ella (12).

1.2 Encefalopatías Espongiformes Transmisibles más importantes:

Encefalopatías Espongiformes descritas en animales:

- Scrapie en oveja y cabra.
- Encefalopatía Espongiforme Felina.
- Encefalopatía Espongiforme en el 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 Sub-aguda.
- Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheniker.
- Insomnio Familiar Mortal.

CAPÍTULO II

ORÍGEN DE LA ENFERMEDAD

2.1 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. 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 (6).

Las vacas se contagiarán 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 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.

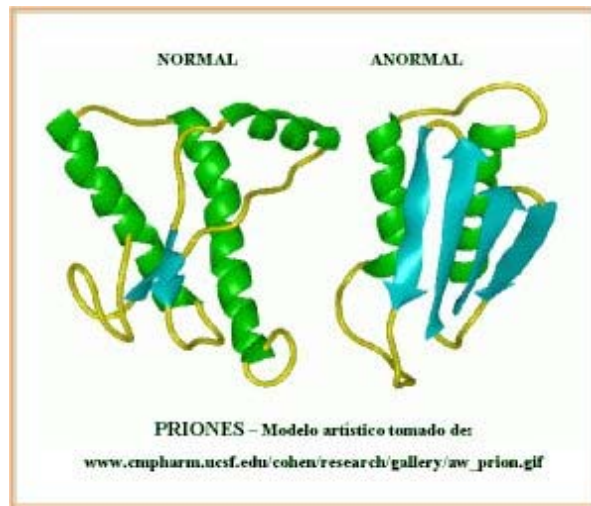


Figura 1.- Estructura tridimensional de proteína priónica (7).

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 (7).

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 (8).

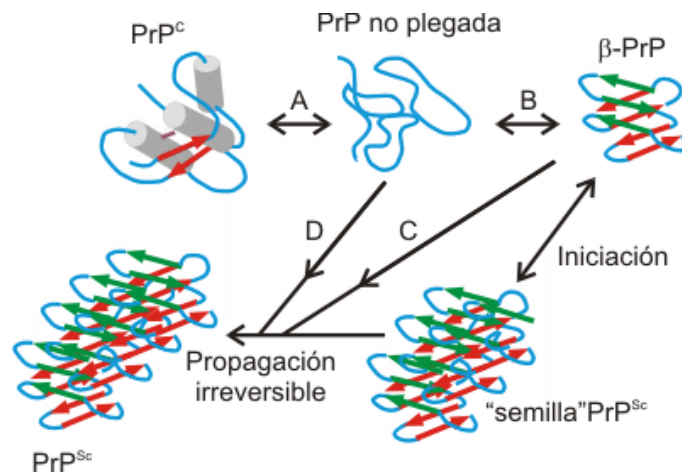


Fig. 2.- Mecanismo posible de propagación priónica. Las isoformas celulares alfa-hélice de la proteína priónica (PrP^c) pasan a través de un estado "no plegado" (A) a otro en el que se repliegan en forma beta-plegada, beta-PrP (B). Esta isoforma Beta-PrP tiende a la agregación en concentraciones salinas fisiológicas. La replicación priónica puede requerir un tamaño crítico de esta isoforma aberrante que actúe como semilla para la agregación de más monómeros de beta-PrP no plegada, proceso que tiene lugar de manera irreversible (9).

2.3 Diseminación Proteica

Para que la infección prospere es necesaria la concentración 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 linfoides alfa: linfocitos B y las Células Dendríticas Foliculares (FDCs). La primera hipótesis sugerida 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 las células inmunológicas del cerebro en casos de neurotoxicidad (8).

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 de 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 LT-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).

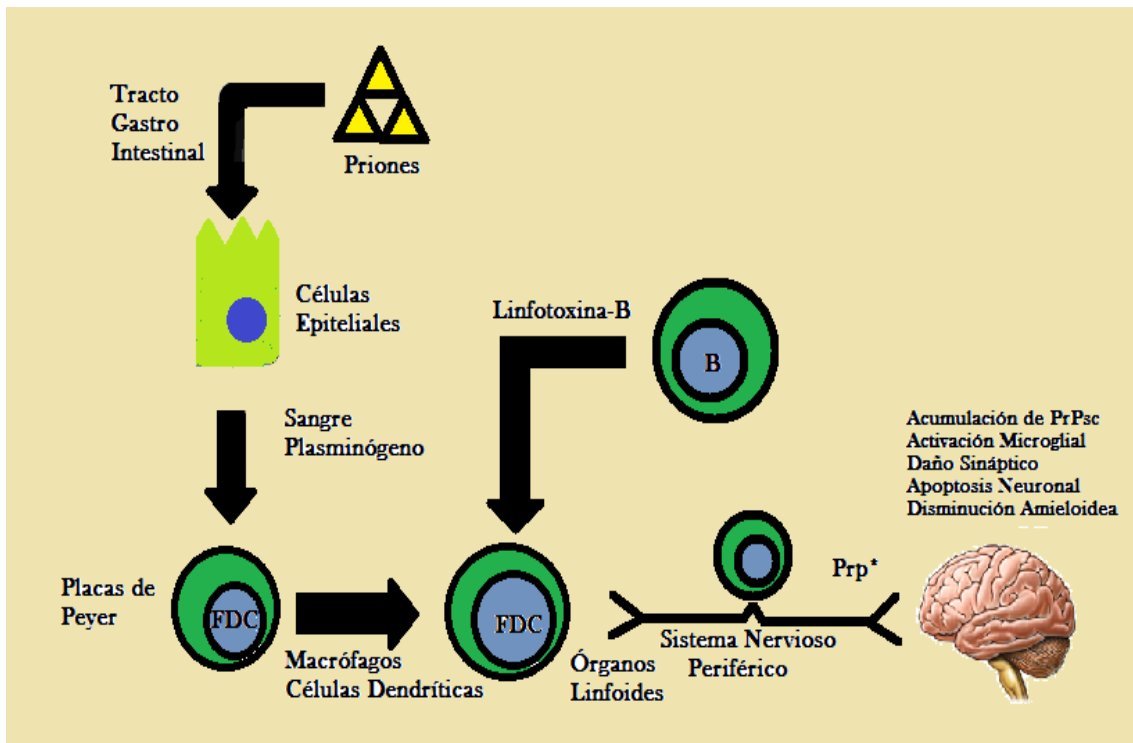


Fig. 3.- Esquema de la diseminación proteica (10).

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).

CAPÍTULO III

CAUSAS QUE PROVOCAN LA TRANSMISIÓN DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA

3.1 Factores Predisponentes

En 1987 Wells y Cols describieron cambios espongiiformes 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 la 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 prión 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 más raciones concentradas que pueden contener harina de carne y huesos (12).

En 1982, la población de ganado ovino en Gran Bretaña, se incrementó en un 16%, por lo que aumentó el número de rebaños infectados con Scrapie, por lo tanto, el número de ovejas (probablemente afectadas con Scrapie), incluidas en la elaboración de harinas de carne y hueso aumentó (13).

Por otra parte, en Gran Bretaña en 1980, por diversos motivos, se suspendió el tratamiento de extracción de grasas con solventes hidrúcarbonados (hexano) en la elaboración de harinas de carne y hueso, se cambió el proceso utilizando sistemas de baja temperatura (12).

3.2 Transmisión

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 (12).

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 (11).

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 (13).

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 (13).

3.3. Huésped

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 (2).

3.4 Cuadro Clínico

3.4.1 Incubación

El periodo 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 (1).

3.4.2 Signos Clínicos

Dado que entre el momento de la infección de un animal con el prión 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 (3):

- 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 una 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:
 - a) Reducción en la producción láctea y pérdida de peso
 - b) Cojeras
 - c) Mastitis
 - d) Postración

3.5 Lesiones

Lesiones microscópicas: el examen histopatológico del SNC ocupa un lugar preponderante en el diagnóstico de la EEB (17).

El grupo de las encefalopatías espongiiformes 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 (16).

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 (17).

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 (17).

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 (16).

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 espongiiformes 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 ultra estructurales de amiloide.

Es de destacar que las encefalopatías espongiiformes 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 (19).

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 (19).

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 (19).

Lesiones Específicas: las lesiones histológicas de la EEB pueden ser consideradas como muy específicas, con dos restricciones muy importantes (19):

- La principal es la autolisis, 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% (19).

- La segunda restricción se debe a que en bóvidos 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 (19).

3.6 Diagnóstico

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 (20).

Diagnóstico Clínico

El diagnóstico clínico con certeza 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 (20).

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 (17).

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 (14).

Diagnóstico 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, además de 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 fondo de incubación, antes de aparecer los síntomas clínicos. Esto podrá servir también para la nueva variante del CJ en humanos (19).

- Western blot.- puede ser más sensible y tiene tal ventaja adicional de demostrarlos diferentes tipos de PrPsc en CJD. La técnica de Western Blot requiere de células homogenizadas y no revela detalles anatómicos. (19)
- ELISA, DELFIA E Inmunoensayo dependiente de la conformación.- En Elisa y Delfia (Disociation Enhanced Lanthanide Fluoro Inmuno Assay) se liga 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 una 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 antígenos 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 (20).

La prueba DELFIA está basada en las particulares propiedades de fluorescencia de quelatos de los metales del grupo de los lantánidos europio, samario, disprosio y terbio. Las propiedades de estos quelatos permiten desarrollar pruebas con una excelente relación señal/ruido que mejora su sensibilidad (20).

Los laboratorios Wallac (<http://www.wallac.com>) proporcionan un amplio abanico de productos bajo las marcas DELFIA® y LANCE™ en forma de kits o reactivos para marcado con uno o más lantánidos en pruebas de mono o multimarco (20).

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 la detección de proteínas, adhesión de células e inmunoensayos. La fluorescencia se desarrolla por la adición de una solución potenciadora (20).

La fluorescencia 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 en el entorno, basada en el tiempo y en la longitud de onda de 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 un reactivo marcado en la misma prueba, por ejemplo dos anticuerpos monoclonales con un fluoruro distinto cada uno, dirigido 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 prohibía la entrada de rumiantes vivos o subproductos de rumiantes (especialmente carne, harina de carne y vísceras) (15).

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

1. En 1988 se prohibió la utilización de cadáveres en bovinos.
2. 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.
3. En todos los países afectados cada 6 meses los bovinos son examinados buscando signos de EEB (15).

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 (17).

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

1. Bovinos inspeccionados post-mortem.
2. Deben haber nacido de dar la prohibición de dar a los rumiantes alimentos con proteínas de rumiantes.
3. La carne de bovino debe de ser deshuesada.
4. Se deben retirar los nódulos linfáticos y tejidos nerviosos visibles (17).

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 (15).

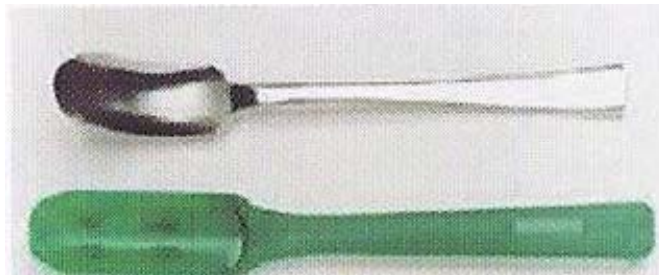
CAPÍTULO IV

OBTENCIÓN, EMPAQUE Y ENVÍO DE MUESTRAS

4.1 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 (15).



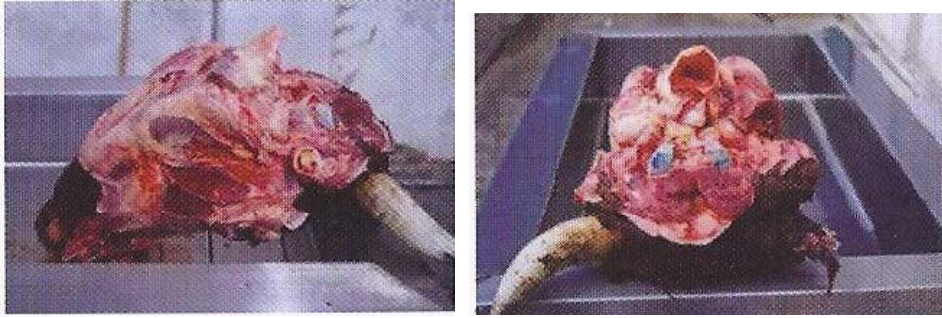
(Fig. 4) Cucharilla especial para extracción de muestras



(Fig. 5) Frascos con Formol usados para mantenimiento de muestras

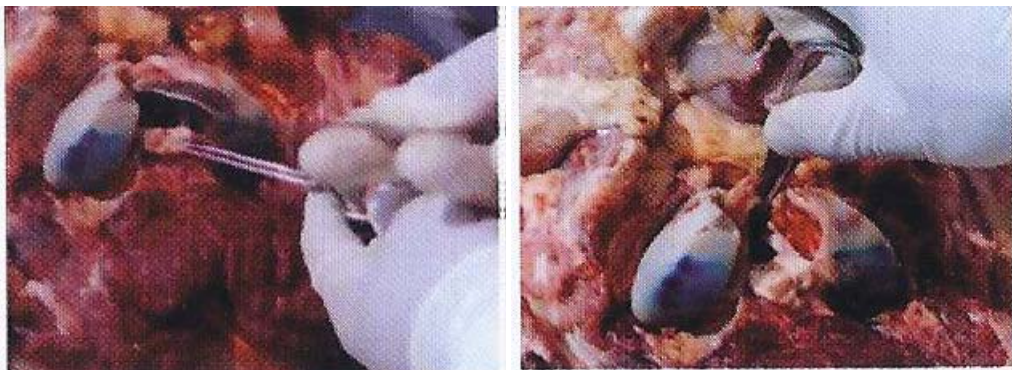
Procedimiento:

- 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 (15).



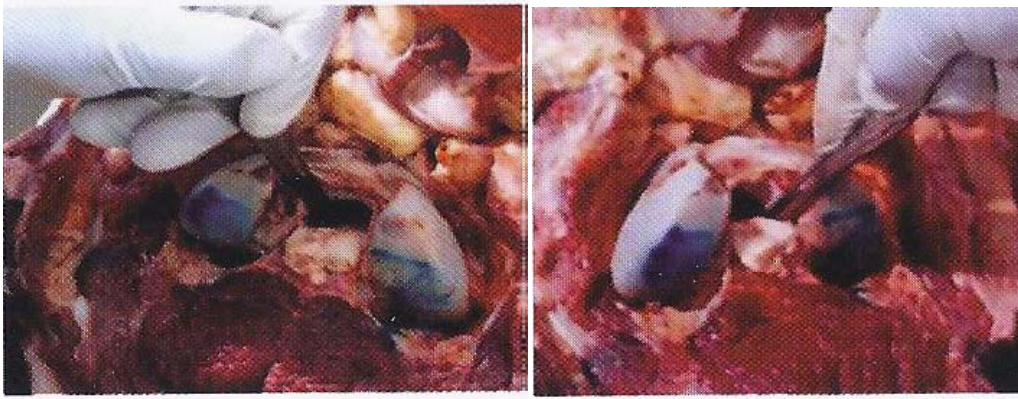
(Fig. 6) Cabeza separada del bovino próximo a muestrear

- Introducir la cucharilla a través de la parte superior del agujero magno con la punta hacia abajo (15).



(Fig. 7) Agujero magno

- 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 (15).



(Fig. 8) Corte de pares craneales por medio de la cucharilla

- Extraer la cucharilla obteniendo únicamente el puente y la médula oblonga con el óbex (15).

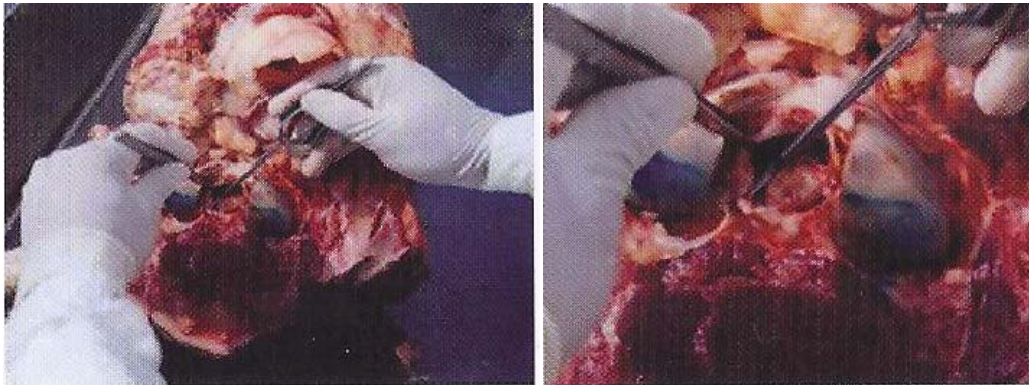


(Fig. 9) Extracción completa de tallo cerebral



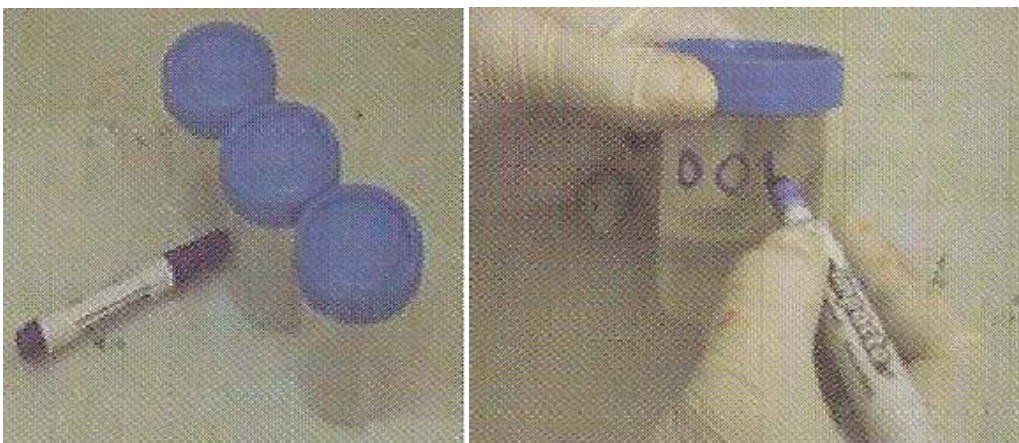
(Fig. 10) Ejemplos de Tallos Cerebrales extraídos.

- 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 (15).



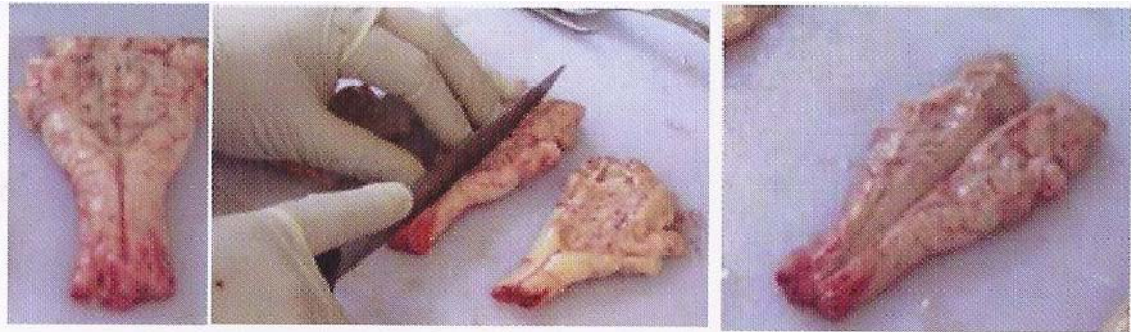
(Fig. 11) Extracción de Tallo usando tijeras y pinzas.

- En caso de encontrar coágulos alrededor del tallo cerebral, eliminarlos con pinzas o tijeras (15).
- 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 (15).



(Fig. 12) Frascos usados para el envío de muestras.

- Realizar un corte sagital medio de la muestra antes de proceder a su empaque (15).



(Fig. 13) Tallo antes y después de corte sagital.

- Colocar una mitad del tallo cerebral en el interior del frasco de 100 ml. Sin formalina (muestra en refrigeración) y cerrarlo perfectamente (15).



(Fig. 14) Mitad de tallo en frasco sin formalina.

- 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) (15).



(Fig. 15) Mitad de tallo en frasco con formalina.



(Fig. 16) Mitades de tallo en diferentes frascos.

- 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 (15).

4.2 Empaque y envío de muestras

- Deberá hacerse inmediatamente después de haberse extraído la muestra.
- Requiere del correcto envasado, identificación y sellado (15).

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).
- Pulmón indeleble.
- Etiquetas rotuladas con los datos del Remitente y del Destinatario tipo auto adheribles o para ser pegadas con lápiz adhesivo o pegamento.
- Cinta adhesiva (15).




(Fig. 17) Hielera con muestras siendo sellada.

CAPÍTULO V

ANEXOS


Junto con las muestras tomadas de los bovinos, se debe de agregar además al envío, el 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 (15).



**SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN**

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD ANIMAL
COMISION MEXICO- ESTADOS UNIDOS PARA LA PREVENCIÓN DE LA FIEBRE AFTOSA
Y OTRAS ENFERMEDADES EXÓTICAS DE LOS ANIMALES

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA
FORMATO PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS




CPA-ST-F-048

Favor de leer el instructivo al reverso. Utilice un formato por cada muestra enviada.
El tiempo máximo para el envío de muestras es de siete (7) días a partir de la fecha de la toma, cumpliendo con las condiciones de conservación.

CPA

I. IDENTIFICACIÓN	
1. N° de Muestra en Origen	2. Fecha de la toma de muestra
II. DATOS DEL RASTRO	
3. Nombre del rastro:	
4. Tipo de Rastro: Municipal <input type="checkbox"/> Planta TIF <input type="checkbox"/> N°	
Particular <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/> 5. Estado:	
6. Municipio:	
III. DATOS DEL PROPIETARIO	
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:	
9. Teléfono y/o Fax:	
10. Documento que permita la rastreabilidad: Certificado zoonosanitario <input type="checkbox"/>	
Guía de tránsito <input type="checkbox"/> Factura <input type="checkbox"/> Otro:	
IV. DATOS DE LA EXPLOTACIÓN DE ORIGEN	
11. Nombre de la explotación:	
12. Ubicación:	
Localidad	
Calle	
Número	
Municipio	
Entidad	
13. Tipo de Explotación:	
Intensivo <input type="checkbox"/>	
Semintensivo <input type="checkbox"/>	
Extensivo <input type="checkbox"/>	
Traspatio <input type="checkbox"/>	
14. Identificación de animal:	
15. Edad:	
16. Sexo: Hembra <input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/>	
17. Raza:	
18. Función zootécnica del animal: Leche <input type="checkbox"/> Carne <input type="checkbox"/>	
19. Si es un animal de importación, anote la fecha de importación: DIA MES AÑO	
20. Si es de origen Nacional, señale si es: Descendiente de un animal importado <input type="checkbox"/>	
21. En caso afirmativo, anote el país de origen de los padres o del semen: <input type="checkbox"/>	
Producto de inseminación con semen importado <input type="checkbox"/>	
VI. INSPECCIÓN ANTEMORTEM	
22. ¿Presentó signos clínicos antes del sacrificio? Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
23. Fecha de inicio: DIA MES AÑO	
24. Signos	
Delgadez excesiva, estado de salud en malas condiciones	
Ansiedad, miedo, irritabilidad excesiva, reacción excesiva al ruido	
Hipersensibilidad (hiperestesia) al tacto con la mano o con la ayuda de algún objeto fino, sobre todo en la región de la ubre y del cuello; temores y estremecimientos musculares	
Nerviosismo, agresividad que se expresa como patear en respuesta a un ligero contacto de los miembros posteriores o cuando alguien se aproxima por detrás del animal	
Temor a pasar por alguna puerta o pequeños obstáculos puestos en el suelo (fosas)	
25. Otros signos neurológicos Especifique:	
26. Señale con una X si corresponde a:	
Bovino de sacrificio de rutina <input type="checkbox"/>	
Bovino de desecho <input type="checkbox"/>	
Bovino decomisado <input type="checkbox"/>	
Bovina castrada <input type="checkbox"/>	
Bovino muerto o sacrificado de emergencia <input type="checkbox"/>	
Bovina con signos neurológicos <input type="checkbox"/>	
27. Diagnóstico presuntivo:	
VII. ENVÍO DE MUESTRAS	
28. Tipo de muestra: Tallo Cerebral <input type="checkbox"/> Encéfalo Completo <input type="checkbox"/> Medio Encéfalo <input type="checkbox"/>	
29. Conservador utilizado: Refrigeración <input type="checkbox"/> Formol <input type="checkbox"/>	
30. Fecha de envío: DIA MES AÑO	
VIII. DATOS DEL MVZ RESPONSABLE DE LA TOMA DE MUESTRA	
31. Nombre:	
Nombre(s)	
Apellido Paterno	
Apellido Materno	
32. Cargo:	
33. Empresa:	
34. Domicilio:	
Calle	
N°	
Colonia o Localidad	
C.P.	
Municipio	
Estado	
N° Telefónico y Fax	
35. Firma:	
IX. DATOS DEL MVZ RESPONSABLE DEL ENVÍO	
36. Nombre:	
Nombre(s)	
Apellido Paterno	
Apellido Materno	
37. Cargo:	
38. Empresa:	
39. Domicilio:	
Calle	
N°	
Colonia o Localidad	
C.P.	
Municipio	
Estado	
N° Telefónico y Fax	
40. Firma:	



KM. 15.5 CARRETERA MÉXICO – TOLUCA, COL. PALO ALTO, DEL. GUAJIMALPA, C.P. 85119, MÉXICO, D.F.
TELS. 5259 - 1441, 5259 - 3035, 5259 - 5048, DE EMERGENCIA 01 (800) 9038 - 800 Y 01 (800) 7512 - 100

ORIGINAL: LABORATORIO
COPIA: REMITENTE

(Fig 18) Formato a llenar para toma y envío de muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pattison JR: Bovine spongiform encephalopathy. *Infect Dis Review* 1:119-121, 1999.
2. “Bovine Spongiform Encephalopathy”, http://www.oie.int/esp/ressources/es_BSE_Disease_Card.pmd.pdf. (16/04/11).
3. Cohen T. Joshua, Duggar Keith, Gray George M. Kreidel 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. “El origen de la Encefalopatía Espongiforme Bovina”, <http://www.eeb.es/pags/saber.htm>. (17/04/11)
5. “Riesgos de la EEB”, <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfon/eeb/eet/enfani.htm>. (18/04/11).
6. “Transmisión de la EEB”, <http://www.aepap.org/pdf/eeb.pdf>. (18/04/11).
7. “Prión”, <http://enciclopediasalud.com/articulos/17-ecologia/89764609-que-es-un-prion>. (15/04/11).
8. “Transmisión Priónica”, <http://www.neurovia.org/700/eprionicas.htm>. (15/04/11).
9. “Imágenes de Transmisión Priónica”, 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&usg=_iMSVWliPXcDPM37Ka7muS3qWXg4=&h=287&w=404&sz=28&hl=es&start=1&tbnid=25uSbPw5nJooVM:&tbnh=88&tbnw=124&prev=/images%3Fq%3Destructura%2Bde%2Bun%2B2Bprion%26hl%3Des. (15/04/11).
10. “Imágenes Diseminación Proteica” <http://images.google.com/imgres?imgurl=http://200.16.86.38/esp/sec-fagrarias/esp/docs-revista/volumenes/images/priones1.gif&imgrefurl=http://200.16.86.38/esp/sec-fagrarias/esp/docs->

revista/volumenes/tomo.php%3Fnumero%3D20_5&usg=_5Gu4i3SNgHinaFGZp7t5n-XdDy0=&h=271&w=400&sz=29&hl=es&start=7&tbnid=0pFrwS-FvqOpeM:&tbnh=84&tbnw=124&prev=/images%3Fq%3Dformation%2Bde%2Blos%2Bpriones%26hl%3Des. (15/04/11).

11. “Diseminación Proteica”,
<http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/bse/priones/priones.htm>.
(17/04/11).
12. “Diseminación de la EEB”,
<http://www.aecientificos.es/escaparate/noticias.cgi?idnoticias=464>.
(18/04/11).
13. “Situación Actual de la EEB”,
http://www.oie.int/esp/ressources/es_BSE_Disease_Card.pmd.pdf.
(19/04/11).
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. Plan de emergencia para la atención de un brote de Encefalopatía Espongiforme Bovina en los Estados Unidos Mexicanos.
16. “Encefalopatías Espongiformes Transmisibles”,
<http://www.rincondelvago.com/encefalopatias-espongiformes-transmisibles.html>. (20/04/11).
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 p1-4.
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. “Diagnóstico de la EEB”,
<http://www.terra.es/personal/uscal.le/diageeb.htm>. (23/04/11).