

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Comarca Lagunera del
Estado de Coahuila del periodo Agosto – Diciembre del 2018.

Por:

MIGUEL VÁSQUEZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Comarca Lagunera del Estado de Coahuila del periodo Agosto – Diciembre del 2018.

Por:

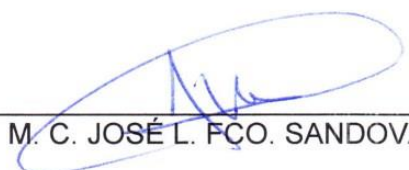
MIGUEL VÁSQUEZ HERNÁNDEZ

TESIS

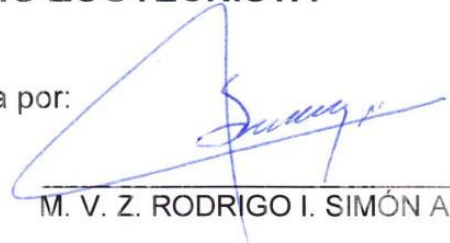
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

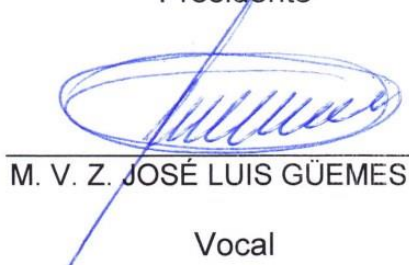
Aprobada por:


M. C. JOSÉ L. FCO. SANDOVAL ELÍAS

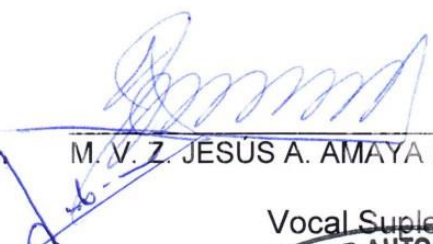
Presidente


M. V. Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

Vocal


M. V. Z. JOSÉ LUIS GÜEMES JIMÉNEZ

Vocal


M. V. Z. JESÚS A. AMAYA GONZÁLEZ

Vocal Suplente

MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Comarca Lagunera del
Estado de Coahuila del periodo Agosto – Diciembre del 2018.

Por:

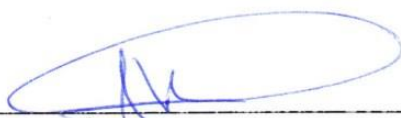
MIGUEL VÁSQUEZ HERNÁNDEZ


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


M. C. JOSÉ L. FCO. SANDOVAL ELÍAS
Asesor Principal


M. V. Z. JOSÉ LUIS GÜEMES JIMÉNEZ
Coasesor


M. V. Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
Coasesor


MC. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

AGRADECIMIENTOS

Gracias a dios, a mi mamá, a mi familia, a mis amistades, mis maestros, mis compañeros, a todos los que creyeron en mí, y me ayudaron a cumplir un sueño que en la infancia imagine ser Médico Veterinario Zootecnista.

DEDICATORIAS

A mi mamá

MC Guadalupe Hernández Trujillo

Quien me dio la vida, el amor, el cariño, valores, modales, sustento económico, y depósito en mi toda su confianza para culminar mi Licenciatura. Y su lucha inagotable que realiza para guiarme a seguir el mejor camino y velar por mi felicidad.

I.- RESUMEN.

Para llevar a cabo esta investigación y detectar la posible presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) en los municipios que conforman la Comarca Lagunera pertenecientes al Estado de Coahuila, se tomaron un total de 222 muestras de tallo cerebral en el periodo Agosto – Diciembre 2018, estos se enviaron al laboratorio nivel 2 para su diagnóstico de la Comisión México – Estados Unidos para la prevención de Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los animales (CPA) ubicado en la ciudad de Torreón, Coahuila.



Fig. 1 Vaquillas importadas de Estados Unidos y Canadá.

Los resultados obtenidos de las muestras fueron “NEGATIVOS” a Encefalopatía Espongiforme Bovina.

Palabras Clave: Encefalopatía Espongiforme, Bovina, Tallo Cerebral, Prion, Muestra, Tallo Cerebral, Sistema Nervioso

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIAS | ii |
| I.- RESUMEN | iii |
| II.- INTRODUCCIÓN | 1 |
| III.- DEFINICIÓN | 2 |
| IV.- ETIOLOGÍA | 3 |
| V.- DISTRIBUCIÓN | 4 |
| VI.- PRION | 5 |
| VII.- FACTORES PREDISPONENTES DE LA ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA | 5 |
| 7.1 TRANSMISIÓN | 6 |
| 7.2 HUÉSPED | 7 |
| VIII.- PERIODO DE INCUBACIÓN | 7 |
| 8.1 SIGNOS CLÍNICOS | 8 |
| Comportamiento | 8 |
| Sensibilidad | 8 |
| Postura y movimientos | 8 |
| 8.2 LESIONES | 9 |
| 8.3 OTRAS LESIONES | 9 |
| IX.- TOPOGRAFÍA DE LAS LESIONES DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA | 10 |
| 9.1 LESIONES ESPECÍFICAS | 11 |
| X.- DIAGNÓSTICO | 12 |
| XI.- DIAGNÓSTICO CLÍNICO | 12 |
| XII.- DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO | 13 |
| 12.1 INMUNOHISTOQUÍMICO | 13 |
| 12.2 WESTERN BLOT (WB) | 13 |
| 12.3 ELISA | 14 |
| XIII.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL | 14 |
| XIV.- TRATAMIENTO | 15 |
| XV.- CONTROL Y ERRADICACIÓN | 15 |
| XVI.- PREVENCIÓN | 16 |
| XVII.- SITUACIÓN DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA EN MÉXICO | 16 |

| | |
|---|----|
| XVIII.- NORMAS OFICIALES. | 17 |
| NOM-060-ZOO-1999.- | 17 |
| NOM-061-ZOO-1999 | 17 |
| XIX.- HIPÓTESIS. | 17 |
| XX.- HIPÓTESIS NULA | 17 |
| XXI.- OBJETIVO. | 18 |
| XXII.- OBJETIVO ESPECIFICO. | 18 |
| XXIII.- MATERIALES Y MÉTODOS. | 19 |
| 23.1 MATERIALES. | 19 |
| XXIV.- OBTENCIÓN DEL TALLO CEREBRAL (TÉCNICA DE CUCHARILLA). | 20 |
| 24.1 PROCEDIMIENTO. | 20 |
| 24.2 ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO. | 26 |
| 24.3 MATERIAL. | 27 |
| XXV.- OBTENCIÓN DEL TALLO CEREBRAL (TÉCNICA PrioSTRIP). | 28 |
| XXVI.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA | 28 |
| 26.1 CLIMA | 29 |
| 26.2 OROGRAFÍA | 29 |
| 26.3 HIDROGRAFÍA | 30 |
| 26.4 DIVISIÓN TERRITORIAL. | 30 |
| 26.5 ECONOMÍA | 31 |
| 26.6 UBICACIÓN GEOGRÁFICA | 31 |
| 26.7 GEOLOGÍA | 31 |
| 26.8 EDAFOLOGÍA | 32 |
| 26.9 USO DEL SUELO Y VEGETACIÓN. | 32 |
| 26.10 USO POTENCIAL DE LA TIERRA. | 32 |
| Agricultura | 32 |
| Pecuario | 32 |
| 26.11 ZONA URBANA | 33 |
| XXVII.- RESULTADOS. | 34 |
| XXVIII.- CONCLUSIONES. | 35 |
| XXIX.- BIBLIOGRAFÍA. | 36 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----|
| Fig. 1 Vaquillas importadas de Estados Unidos y Canadá..... | iii |
| Fig. 2 Situación de EEB de julio a diciembre de 2012 (OIE)..... | 4 |
| Fig. 3 Cucharilla metálica..... | 19 |
| Fig. 4 Contenedores de plástico..... | 19 |
| Fig. 5 Cadáver de bovino..... | 20 |
| Fig. 6 Separación de la cabeza del cuerpo..... | 20 |
| Fig. 7 Colocación de la cabeza sobre una superficie sólida, previamente desinfectada..... | 21 |
| Fig. 8 Identificación de los pares craneales..... | 21 |
| Fig. 9 Separación de los pares craneales con pinzas de ratón..... | 21 |
| Fig. 10 Identificación de orificio magno..... | 22 |
| Fig. 11 Introducción de la cucharilla metálica..... | 22 |
| Fig. 12 Giro de la cucharilla 180° a la derecha..... | 23 |
| Fig. 13 Giro de la cucharilla 180° a la izquierda..... | 23 |
| Fig. 14 Identificación del tallo cerebral con pinzas de ratón..... | 24 |
| Fig. 15 Extracción de la cucharilla metálica junto con el tallo cerebral..... | 24 |
| Fig. 16 Tallo cerebral..... | 25 |
| Fig. 17 Tallo cerebral de bovino sano..... | 25 |
| Fig. 18 Tallo cerebral con coágulos..... | 26 |
| Fig. 19 Límites de la Comarca Lagunera del Estado de Coahuila..... | 29 |
| Fig. 20 Recolección de muestras por mes..... | 34 |
| Fig. 21 Número de muestras recolectadas..... | 34 |

II.- INTRODUCCIÓN.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) es definida como una enfermedad crónica degenerativa que afecta al sistema nervioso de los bovinos adultos. También llamada “Enfermedad de las vacas locas” debido a sus signos clínicos. Fue reconocida por primera vez en Gran Bretaña en 1986, por su propagación y transmisión indican que se trata de un agente causal que ha sido identificado como una partícula infecciosa (prion), cuyo tamaño es menor que el de los virus, el agente es altamente resistente a la inactivación de métodos físicos y químicos, como los desinfectantes comerciales, este puede sobrevivir varios años en el ambiente y en los subproductos de origen animal como las harinas de carne y hueso, caracterizado por su curso progresivo, que causa degeneración del Sistema Nervioso Central (SNC), produciendo cambios espongiformes en el tejido cerebral. (González, 2000)

México se encuentra libre de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), desde que se reporta la enfermedad, se lleva a cabo un programa específico de vigilancia de neuropatías en establos que importan vaquillas para repoblar sus unidades de producción, cuando terminan su vida reproductiva de los bovinos se realiza el sacrificio humanitario en plantas Tipo Inspección Federal (TIF), y se recolectan las muestras de tallo cerebral. (Pérez, 1099).

III.- DEFINICIÓN.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) también conocida como “enfermedad de las vacas locas”, es una enfermedad no febril, crónica, degenerativa y fatal, que afecta el sistema nervioso central de los bovinos. (Delgado, 2002)

Esta enfermedad se caracteriza por tener periodo de incubación prolongado en torno a los 4 – 5 años. (Delgado, 2001)

La enfermedad está causada por una proteína infecciosa denominada “prion”, impone por razones éticas el sacrificio humanitario de los animales afectados. (Delgado, 2002)

Los síntomas de esta enfermedad se reflejan por la acumulación del prion en las células neuronales, dando origen a una apoptosis. (Delgado, 2002).

Un análisis microscópico revela lesiones como vacuolas que dan al tejido nervioso un aspecto de esponja. (Delgado, 2002).

IV.- ETIOLOGÍA.

Esta enfermedad es producida por una proteína infecciosa a la que se le ha llamado “Prion” que carece de ADN, muy resistente a las altas temperaturas, a los rayos ultravioleta, a la radiación ionizante así mismo a los desinfectantes químicos que habitualmente inactivan a los virus. Este no causa reacciones inflamatorias. (Ribas, 2013).

En la actualidad no hay pruebas diagnósticas para detectar la enfermedad en bovinos, solo puede confirmarse después de la muerte o sacrificio del animal, hasta seis meses antes de las manifestaciones mediante la detección del agente por medio de la identificación de las lesiones histopatológicas en el tejido cerebral, después del comienzo de los signos de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB). (Varela, 2001).

V.- DISTRIBUCIÓN.

Actualmente México se encuentra libre de esta enfermedad. El último caso presentado ante la OIE fue en Brasil el 07 de diciembre del 2012 después de la confirmación del diagnóstico por el Laboratorio de referencia de la OIE en Weybridge / Reino Unido (Agencia de laboratorios veterinarios y sanidad animal AHVLA). El evento se refiere a una vaca nativa, criada para producción de terneros de corte. La vaca nació en 1997, después de la prohibición de la utilización de proteínas de rumiantes en la alimentación de rumiantes en Brasil, que se dio en 1996. La investigación epidemiológica mostró que durante toda su vida el animal fue alimentado exclusivamente con forrajes y suplementación mineral, sistema de cría que no favorece a la aparición de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) y abarca aproximadamente el 95% del ganado de corte criado en Brasil. El caso demostró características no comunes a EEB, tales como la evolución aguda hasta la muerte (en menos de 24 horas) y la edad avanzada del animal (cerca de los 13 años). (OIE, 2019).

Otro caso se presentó en California el día 09 de abril de 2012, el animal fue sacrificado por presentar una cojera y al hacer el análisis se detectó que era un caso atípico de la enfermedad. (OIE, 2019).

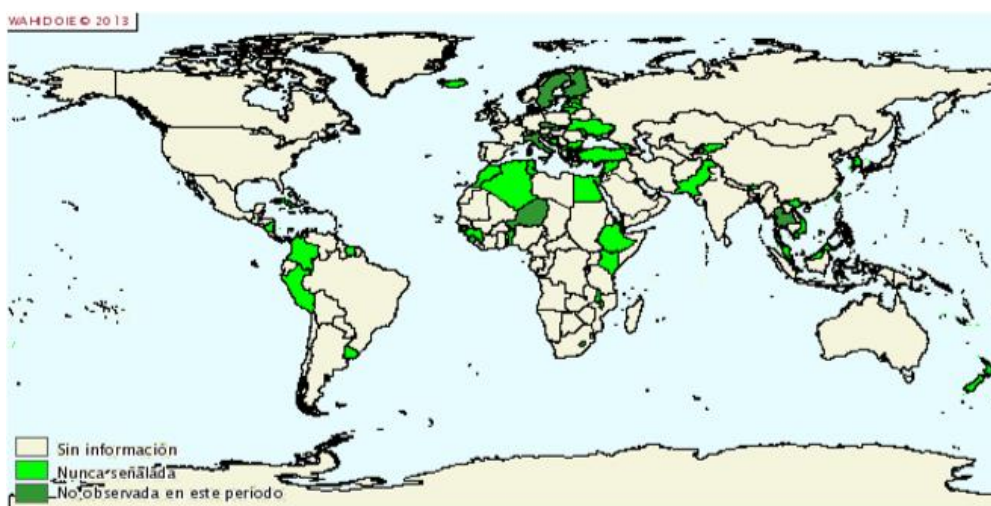


Fig. 2 Situación de EEB de julio a diciembre de 2012 (OIE).

VI.- PRION.

Es el agente causal de la EEB Glicoproteína PrP^{Sc}, cuenta con una estructura primaria idéntica a la Pr^{PC}, 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 Pr^{PC} mediante un proceso auto-catalítico la conversión se da en las neuronas provocando daño al tejido nervioso, se acumula de forma progresiva en el SNC formando estructuras amiloideas lo que causa una disfunción neurológica y la muerte. Este es resistente a tratamientos físicos (calor, luz ultravioleta y radiación ionizante), es estable a una amplia gama de pH y sobrevive en tejidos cadavéricos. (Lupi, 2003)

VII.- FACTORES PREDISPONENTES DE LA ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA.

Wells y Cols en 1987 localizaron cambios espongiformes en el cerebro de una vaca enferma de Encefalopatía Espongiforme Bovina esto podía relacionarse con un cambio que había en la explotación ganadera en 1981, de forma que los priones de Encefalopatía Espongiforme Bovina no se inactivaron completamente antes de alimentar a las vacas con harinas de carne y hueso de otros bovinos infectados. Científicos creen que la enfermedad se transmite entre bovinos por la ingesta de piensos elaborados a base de desechos de otros animales procesados como bovinos u ovinos infectados. El prion es resistente a los procedimientos comerciales de desactivación tales como el tratamiento térmico, es decir que no se destruye por completo mediante este proceso. (Sotelo, 2010).

En el año de 1982 en Gran Bretaña la población de ovinos incremento en un 16%, entonces, incremento el número de rebaños infectados, así mismo en número de ovinos enfermos, que se incluyeron en la elaboración de harinas de

carne y hueso. Fue en Gran Bretaña en 1980, que por diversas situaciones, se suspendió el tratamiento por falta de hidrocarburo que trajo como consecuencia la falta de harina de carne y hueso. (Peralta, 2011).

7.1 TRANSMISIÓN.

El desarrollo y propagación de la Encefalopatía Espongiforme Bovina sigue siendo una incógnita en la actualidad. Varias teorías señalan que se trata de una adaptación del agente infeccioso del scrapie del ganado ovino al vacuno y están soportadas por que a partir de los análisis de 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. Entonces esto 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. (Lewin, 2012).

La Encefalopatía Espongiforme Bovina tiene un alto rango de hospedadores, así de forma natural se ha comprobado que es transmisible al gato común y animales de zoológico, tales como los 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 las muestras de bovinos con Encefalopatía Espongiforme Bovina. Estos resultados sugieren que la ruta más probable de infección en estos animales sería la oral, por consumo de harinas o piensos realizados con bovinos infectados. De forma experimental se ha visto que se transmite a animales domésticos y a animales de laboratorio. La transmisión horizontal de bovinos o vertical no ha podido ser demostrada hasta el momento, puesto que los resultados no han sido concluyentes. (Sánchez, 2013)

7.2 HUÉSPED.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina en condiciones naturales afecta a todas las razas de bovinos, aunque se presenta con mayor frecuencia en bovinos productores de leche, debido a las prácticas de alimentación ya que se les administra concentrados elaborados a base de restos de rumiantes infectados, de carne y hueso. (Brun, 2000).

VIII.- PERIODO DE INCUBACIÓN

En los bovinos existe un periodo de incubación de a aproximadamente de 3 a 5 años. En experimentos, la incubación de bovinos 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. (Bolaños, 2011).

8.1 SIGNOS CLÍNICOS.

Dado que entre el momento de la infección de un animal con el prion y la aparición de los signos clínicos de EEB se detectan en animales adultos, pueden durar de dos a seis meses hasta la muerte del animal, pueden presentar:

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.

Sensibilidad: Hipersensibilidad al ruido, luz, tacto, especialmente de la cabeza y cuello.

Postura y movimientos: Postura anormal de la cabeza, dificultad para levantarse, ataxia, debilidad muscular espontánea, marcha insegura, caídas continuas.

En conclusión los signos más frecuentes son: aprensión, frenesí, ataxia, temblores, caídas, hiperestesia táctil y auditiva, posición anormal de la cabeza y agresividad. Este es resistente a tratamientos físicos como: calor, luz ultravioleta y radiación ionizante, es estable en una amplia gama de Ph y sobre vive en tejidos cadavéricos.

8.2 LESIONES.

Lesiones microscópicas: el examen histopatológico del SNC ocupa un lugar en el diagnóstico de la EEB. El grupo de las Encefalopatías Transmisibles, entre las que se encuentran las EEB, la cual se caracteriza por la bastante homogeneidad en las lesiones. Están denominadas 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. (Brun, 2000).

Vacuolización del neuropil: igualmente denominada espongiosis, es una lesión caracterizada por la presencia de vacuolas, muchas veces múltiples, circulares, de contornos regulares, localizadas en el neuropil. Cuando la vacuolización es muy marcada, el territorio lesionado toma realmente un aspecto esponjoso. (Mello, 2002).

8.3 OTRAS LESIONES.

Lesiones neuronales, algunas lesiones presentan imágenes de necrosis neuronal solitaria. (Sánchez, 2013).

Lesiones de la glía, gliosis (proliferación de células gliales), puede acompañar las lesiones degenerativas de las neuronas. (Sánchez, 2013).

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

IX.- TOPOGRAFÍA DE LAS LESIONES DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA.

En las Encefalopatías Espongiformes las lesiones están limitadas a la sustancia gris del Sistema Nervioso Central, 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. Las lesiones en el bovino se localizan principalmente en el tronco del encéfalo, particularmente en la protuberancia anular y bulbo raquídeo, esta también puede afectar anteriormente al mesencéfalo y posteriormente a la médula espinal. (Laurindo, 2017).

La localización esencial es:

- ⊗ En el mesencéfalo: el culliculus 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 el scrapie en los ovinos en el que las lesiones son generalmente asimétricas. (Méndez, 2001).

9.1 LESIONES ESPECÍFICAS.

En la Encefalopatía Espongiforme Bovina las lesiones pueden ser consideradas muy específicas, por dos restricciones muy importantes. La primera en la autólisis: que en el tejido nervioso se acompaña de la formación de vacuolas como artefactos, estas vacuolas tienen contornos irregulares, que pueden identificarse muy fácilmente, el problema es que puede enmascarse las verdaderas lesiones de Encefalopatía Espongiforme Bovina, sobre todo si son discretas y están confinadas al neurópilo. 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%. (Ribas, 2013).

La segunda restricción se debe a que los bovinos adultos 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 Encefalopatía Espongiforme Bovina depende del respeto a ciertas reglas simples para la toma de muestras, fijación y tratamiento de laboratorio. (Ribas, 2013).

X.- 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. (González, 2000).

XI.- DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

El diagnóstico clínico de la Encefalopatía Espongiforme Bovina sin corteza es imposible. Se puede sospechar de Encefalopatía Espongiforme Bovina 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. (Valles, 2011).

XII.- DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

12.1 INMUNOHISTOQUÍMICO.

Es la detección microscópica de PrPsc teñido inmunológicamente, no solo detecta 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 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. (Sotelo, 2010).

12.2 WESTERN BLOT (WB).

Puede ser más sensible y tiene tal ventaja adicional de demostrar los diferentes tipos de PrPsc en el CJD. La técnica de Western Blot requiere de células homogenizadas y no revela detalles panorámicos. (Díaz, 2010).

12.3 ELISA

ELISA se presenta como una alternativa muy adecuada en la mayoría de las infecciones para examinar un elevado número de muestras rápidamente y con un grado de sensibilidad alto, sin embargo, para la Encefalopatía Espongiforme Bovina todavía se ha optimizado una prueba de ELISA que haya reunido la aprobación general. El ELISA que goza de mayor aceptación es que es propuesto 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.

XIII.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.

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

XIV.- TRATAMIENTO.

Para la Encefalopatía Espongiforme Bovina no existe un tratamiento eficaz ni posibilidades terapéuticas, así mismo se procede al aislamiento y sacrificio humanitario de los animales sospechosos. Se debe evitar dañar el tejido cerebral que se utilizará para el diagnóstico. (Valles, 2011).

XV.- 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.

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

- ✘ En 1988 se prohibió la utilización de cadáveres en bovinos en las dietas de bovinos.
- ✘ En 1989 se realiza el decomiso total de encéfalo, médula espinal, tonsilas, timo, bazo e intestino de origen bovino.
- ✘ En todos los países afectados se realiza una vigilancia activa, bovinos son examinados buscando signos de Encefalopatía Espongiforme Bovina.

XVI.- PREVENCIÓN.

Para prevenir la entrada de EEB, del exterior de EE. UU. Se han restringido la importación de rumiantes procedentes de países afectados. También se incluyen: suero fetal de bovino, harina de carne y sangre, menudos, tripas, grasas y granuladas, excepto para propósitos de investigación; tampoco se puede importar colágeno y derivados, líquido amniótico o extractos, líquido placentario, albumina sérica y calostro sérico. No se ha encontrado ningún elemento que respalde la transmisión horizontal de bovino a bovino, o vertical de padres a hijos. (Ramos, 2011).

XVII.- SITUACIÓN DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA EN MÉXICO.

México en la actualidad se encuentra libre de Encefalopatía Espongiforme Bovina y Scrapie, debido a que se lleva a cabo un programa específico de vigilancia de neuropatías en rumiantes. Dicha vigilancia consiste en la recolección de muestras de encéfalos de bovinos, ovinos y caprinos que muestran 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) así mismo las muestras que resulten negativas por inmunofluorescencia a rabia, se analizan por histopatología para el diagnóstico de Encefalopatía Espongiforme Bovina o Scrapie. (González, 2000).

XVIII.- NORMAS OFICIALES.

NOM-060-ZOO-1999.- Especificaciones zoonosanitarias para la transformación de despojos animales y su empleo en la alimentación animal.

NOM-061-ZOO-1999.- Especificaciones zoonosanitarias de los productos para consumo animal.

XIX.- HIPÓTESIS.

Existe la posibilidad de encontrar casos positivos, os cinco Municipios que conforman la Comarca Lagunera pertenecientes al Estado de Coahuila: Francisco I. Madero, Matamoros, San Pedro de las Colonias, Torreón y Viesca, por la introducción de ganado bovino para fines de producción lechera, originario y procedente de Estados Unidos y Canadá, estos en su mayoría de la raza Holstein.

XX.- HIPÓTESIS NULA.

Cabe mencionar que dada la posibilidad de que se reporte algún caso positivo de Encefalopatía Espongiforme Bovina; puede tener relación con la importación de bovinos, de otros países y al relajamiento de los puntos de inspección de nuestro país (puertos, aeropuertos y fronteras).

XXI.- OBJETIVO.

Dar a conocer la situación que se tiene en los municipios que forman la Comarca Lagunera pertenecientes al estado de Coahuila para la prevención de Encefalopatía Espongiforme Bovina.

XXII.- OBJETIVO ESPECIFICO.

Muestreo e identificación del agente etiológico en el laboratorio de EEB.

XXIII.- MATERIALES Y MÉTODOS.

23.1 MATERIALES.

- ⊗ Botas, overol, mandil vinil, lentes de protección o careta de protección, guantes de látex.

- ⊗ Cuchara especial.

- ⊗ Tijeras rectas.

- ⊗ Pinzas de dientes de ratón.

- ⊗ Bolsa hermética ziploc o frascos para muestras (estériles)

- ⊗ Plumón indeleble.

- ⊗ Hielera.

- ⊗ Formalina al 10%.

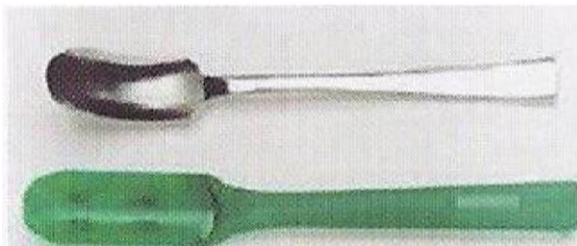


Fig. 3 Cucharilla metálica



Fig. 4 Contenedores de plástico

XXIV.- OBTENCIÓN DEL TALLO CEREBRAL (TÉCNICA DE CUCHARILLA).

Para el diagnóstico de la Encefalopatía Espongiforme Bovina es necesario obtener el tallo cerebral.

24.1 PROCEDIMIENTO.

- ✘ Separando la cabeza del cuerpo del animal a nivel de la articulación atlanto – occipital, se coloca sobre una superficie sólida y previamente desinfectada con la parte frontal hacia abajo.



Fig. 5 Cadáver de bovino.



Fig. 6 Separación de la cabeza del cuerpo.



Fig. 7 Colocación de la cabeza sobre una superficie sólida, previamente desinfectada.

- ✘ Con el dedo separar los pares craneales o con ayuda de las pinzas de ratón y tijeras.



Fig. 8 Identificación de los pares craneales.



Fig. 9 Separación de los pares craneales con pinzas de ratón.

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



Fig. 10 Identificación de orificio magno.



Fig. 11 Introducción de la cucharilla metálica.

- ✘ Una vez que la cucharilla haya llegado hasta el topa (cresta encéfalo – occipital), realizar un giro de 180° hacia la derecha y en seguida hacia la izquierda.



Fig. 12 Giro de la cucharilla 180° a la derecha



Fig. 13 Giro de la cucharilla 180° a la izquierda.

- ✘ En seguida se extrae la cucharilla obteniendo únicamente el puente y la médula oblonga con el óbex.



Fig. 14 Identificación del tallo cerebral con pinzas de ratón.



Fig. 15 Extracción de la cucharilla metálica junto con el tallo cerebral.

- ✘ Ojo: en caso de atorarse, se desprende con pinzas y tijeras los nervios craneales XII, XI, X (hipogloso, espinal accesorio y vago) de las meninges y retirar el tallo cerebral.



Fig. 16 Tallo cerebral.



Fig. 17 Tallo cerebral de bovino sano.

- ✘ Si se llegaran a encontrar coágulos alrededor del tallo cerebral, se deben eliminar con pinzas o tijeras.

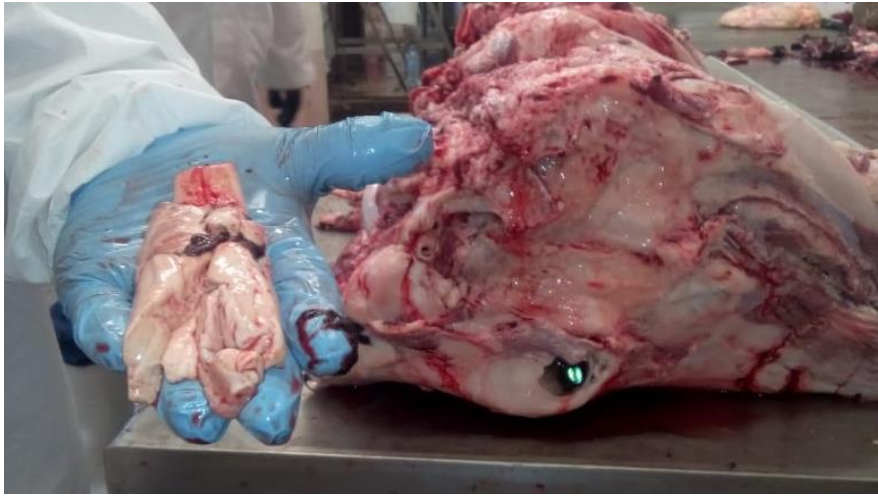


Fig. 18 Tallo cerebral con coágulos.

24.2 ENVIÓ DE MUESTRAS AL LABORATORIO.

- ✘ Las muestras de tallo cerebral se almacenan en frascos de 100 ml (con o sin formalina).
- ✘ Identificarlos con plumón indeleble cada una de las muestras, el número asignado debe de ser del caso o del animal, cada muestra debe de ir en formol, refrigeración y el formato para el envío de muestras.
- ✘ Realizar un corte sagital medio de la muestra antes de proceder a su empaque.
- ✘ Colocar la mitad de un tallo cerebral en el interior del recipiente (bolsa o frasco) sin formalina, esta es una muestra que va en refrigeración y cerrada perfectamente.

- ✘ La otra mitad de la muestra se coloca en el otro recipiente con formalina al 10% hasta cubrir totalmente la muestra (deberá tener una relación de una parte de tejido por diez de formalina).
- ✘ Cada muestra empacada deberá incluir la información epidemiológica por medio del sistema para el envío de muestras CPA-ST-F048 de vigilancia epidemiológica de la Encefalopatía Espongiforme Bovina; Identificados con el mismo número utilizado en las muestras en refrigeración.

24.3 MATERIAL.

- ✘ Hielera de tamaño adecuado para las muestras en refrigeración.
- ✘ Caja de cartón.
- ✘ Refrigerantes (los necesarios para conservar la muestra fresca a temperatura de refrigeración durante el envío).
- ✘ Plumón indeleble.
- ✘ Etiquetas rotuladas con los datos del Remitente y el destinatario tipo auto adheribles o para ser pegadas con lápiz adhesivo o pagamento.
- ✘ Original y copia de los formatos para el envío de muestras de Encefalopatía Espongiforme Bovina (CPA – ST – 048) y cuando corresponda a un caso de neuropatía, original y copia del formato SIVE – 02 debidamente llenados.
- ✘ Cinta adhesiva.

XXV.- OBTENCIÓN DEL TALLO CEREBRAL (TÉCNICA PrioSTRIP).

Se toma una muestra de la médula oblongada de la región del óbex en el tronco cerebral, se registra y se homogeneiza. El tratamiento con proteinasa K destruye por completo la PcP mientras que la PrP se ve reducida al fragmento 27 – 30 se interrumpe la reacción proteolítica y la PrP se detecta mediante el ensayo Prionics – Check PrioSTRIP. Con el bisturí cortar 0,45 – 7,0 g de tejido nervioso del área definida de la parte izquierda o bien de la parte derecha del tronco cerebral, y pesar la muestra para cerciorarse de que la cantidad es la correcta (Gonzalez, 2000).

XXVI.- UBICACIÓN GEOGRÁFICA.

El estudio se realizó en los cinco municipios que conforman la Comarca Lagunera pertenecientes al Estado de Coahuila México. Estas muestras fueron recolectadas en el periodo agosto – diciembre del año 2018.

Dentro de ella se encuentra la novena zona metropolitana más poblada de México, considerada una de las conurbaciones más jóvenes y de mayor ritmo de crecimiento en México.

26.1 CLIMA.

La región laguna es una zona que se caracteriza por sus limitados recursos hídricos y por su clima seco muy caluroso en verano alcanzando hasta 44.8° grados centígrados y frío en invierno, con temperaturas que oscilan entre los 8° y 0°, llegando incluso a los -7° grados centígrados, precipitación 100 – 400 mm, muy seco semicálido.

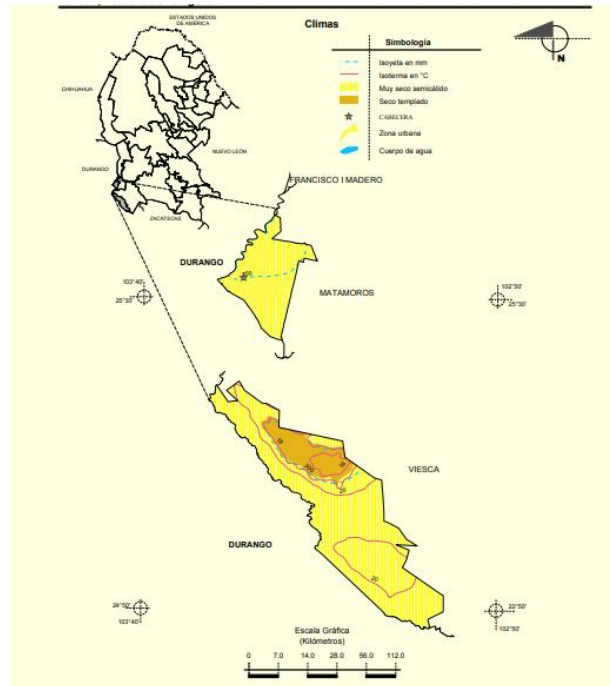


Fig. 19 Límites de la Comarca Lagunera del Estado de Coahuila.

22.2 OROGRAFÍA.

Esta región, que se localiza en la zona norcentral de México, en el Desierto de Chihuahua donde se encuentran montes de baja altura de clima árido a muy árido, zonas selváticas, boscosas denominadas “islas del cielo” y enclaves de alta elevación en el bosque de robles y pinos de la Sierra Madre Oriental.

La escasa precipitación y las características del terreno sólo favorecen la aparición de corrientes intermitentes y efímeras.

26.3 HIDROGRAFÍA.

En la región se observan cuatro principales usos del agua, que en orden de importancia son: agrario (89%); público urbano (7%); pecuario (2%) e industrial (2%). Del total del volumen utilizado para satisfacer estas demandas, el 60,6% se extrae del subsuelo mediante el aprovechamiento de los acuíferos principal, Ceballos, y Oriente Aguanaval; en 39.4% restante del volumen proviene de aguas superficiales.

26.4 DIVICIÓN TERRITORIAL.

La región laguna del Estado de Coahuila se conforma por cinco municipios que son:

1. Torreón.
2. Matamoros.
3. San Pedro de las Colonias.
4. Francisco I. Madero.
5. Viesca.

Colinda al norte con el estado de Durango y el Municipio de Matamoros; al este con los Municipios de Matamoros y Viesca; al sur con el Municipio de Viesca y el Estado de Durango; al oeste con el Estado de Durango.

26.5 ECONOMÍA.

La economía de la región laguna es una de las de mayor crecimiento de México, considerando la gran cantidad de empresas conocidas que se establecen en las zonas industriales de Torreón, por ejemplo, la conocida Empresa Lechera LaLa que tiene aquí su origen y el de su nombre (La Laguna), al igual que la cadena de supermercados Soriana e Hipermart, además de otras marcas reconocidas como Grupo Modelo, la Empresa Minera Peñoles, las Tiendas Extra, Cimaco, entre otras.

26.6 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.

Coordenadas: Entre los paralelos 25° 42' y 24° 48' de latitud norte; los meridianos 103° 31' y 102° 58' de longitud oeste; altitud entre 1000 y 2500 metros sobre el nivel del mar.

26.7 GEOLOGÍA.

Periodo.

Cretácico (42.5%), Cuaternario (42%), Paleógeno (9%), Neógeno (4%), Triásico (2%) y Jurásico (0.5%).

Roca

Ígnea extrusiva: Basalto (3%)

Metamórfica: Metasedimentaria (1.5%)

Sedimentaria: Caliza (41%), conglomerado (13%), caliza – lutita (1.5%), yeso (0.3%), arenisca (0.1%) y lutita – arenisca (0.1%)

Suelo: Aluvial (39.4%) y eólico (0.1%).

26.8 EDAFOLOGÍA.

Suelo dominante:

Leptosol (45.6%), Regosol (22.8%), Phaozem (14.4%), Calcicol (12.0%), No aplicable (4.9%), Fluvisol (0.2%) y Luvisol (0.1%).

26.9 USO DEL SUELO Y VEGETACIÓN.

Uso del suelo. Agricultura (15%) y zona urbana (5%).

Vegetación. Matorral (77.8%), pastizal (2%) y bosque (0.2%).

26.10 USO POTENCIAL DE LA TIERRA.

Agricultura.

Para la agricultura comercializada continua (39%)

No apta para la agricultura (61%).

Pecuario.

Para el establecimiento de praderas cultivadas con maquinaria agrícola (39%).

Para el aprovechamiento de la vegetación natural diferente del pastizal (7%).

Para el aprovechamiento de la vegetación natural únicamente el ganado caprino (54%).

26.11 ZONA URBANA.

Las zonas urbanas están creciendo sobre suelos y rocas sedimentarias del Cuaternario, en llanuras y sierras; sobre áreas donde originalmente había suelos

XXVII.- RESULTADOS.

De las 222 muestras que se recolectaron de los 5 municipios que conforman la Comarca Lagunera del Estado de Durango todas fueron negativas.

| Mes | Número de muestras | Total |
|------------|--------------------|------------|
| Agosto | 28 | 222 |
| Septiembre | 59 | |
| Octubre | 48 | |
| Noviembre | 55 | |
| Diciembre | 22 | |

Fig. 20 Recolección de muestras por mes.

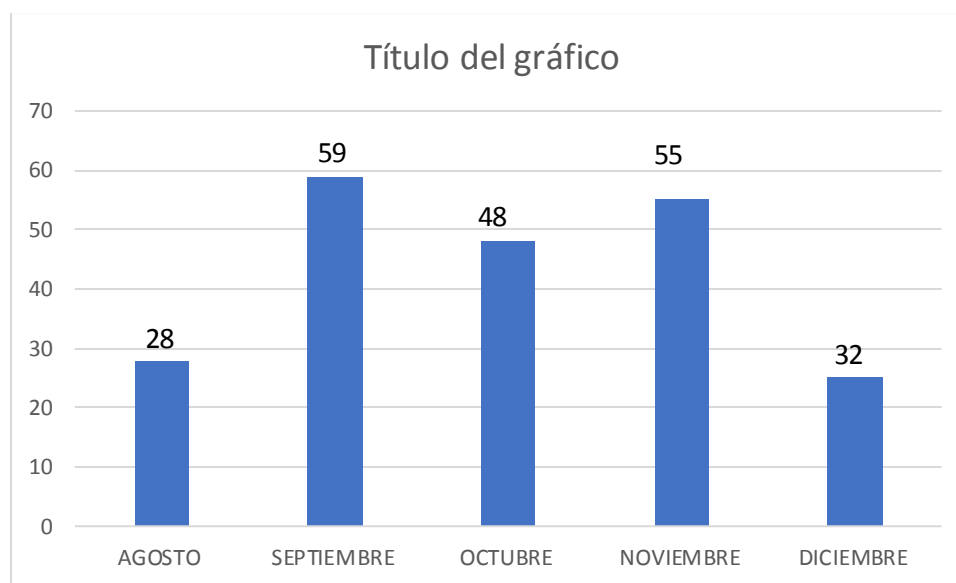


Fig. 21 Número de muestras recolectadas.

XXVIII.- CONCLUSIONES.

Concluí que la presencia de Encefalopatía Espongiforme Bovina en los cinco municipios que conforman la Comarca Lagunera pertenecientes al Estado de Coahuila, Francisco I. Madero, Matamoros, San Pedro, Torreón y Viesca, esto debido a la gran presencia de barreras zoosanitarias que operan actualmente en la región, estado y en nuestro país.

No obstante el riesgo que se presenta para que un animal adquiriera Encefalopatía Espongiforme Bovina es mínimo, esto gracias a los requisitos de importación que exige México. Así mismo nuestro país ha prohibido la importación y el consumo de harinas de carne, sangre, hueso para el consumo de rumiantes de países afectados con Encefalopatía Espongiforme Bovina.

También la ausencia del tallo cerebral en los encéfalos que se extrajeron, imposibilitan el diagnóstico de Encefalopatía Espongiforme Bovina por histopatología, entonces es conveniente y preciso tener un completo conocimiento de la técnica para obtener el encéfalo completo y así tener una diagnóstico más efectivo y preciso.

XXIX.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Sotelo A; F. 2010. "Muestreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Región de Gómez Palacio, Durango". Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P. 16 – 21.
2. Mendoza S; C. 2009. "Muestreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Región Lagunera". Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P. 10 – 14.
3. Díaz A; S. 2010. "Muestreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en la Región de Torreón, Coahuila". Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P. 9 – 18.
4. Sánchez V; K. O. "Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en el Municipio de Torreón Coahuila". Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P. 3 – 22.
5. Valles C; A. J. 2011. "Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en el Municipio de Gómez Palacio, Dgo. Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P. 11 – 17.
6. González, H. E. 2000. Encefalopatía Espongiforme Bovina. 27 (1): 26 – 28.

7. (Delgado *et al*; 2002). Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. 44 (1): 69 – 75.
8. Denadai, J. C; Ducatti, C; Sartori, J. R; Pezzato, A. C; Móri, C; Gottmann, R; Okino, M. A. 2009. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovinos em ovos de poedeiras alimentadas com ingredientes alternativos. 44 (1): 1 – 7.
9. Ribas, N. K; Calvalho, R. I; Carvalho, A. S; Valenzuela, R. A; Gouveia, AA. F; Castro, M. B; Mori, A. E; Amaral, R. L. 2013. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. 33 (10): 1183 – 1194.
10. Sanches, C; Rosinha, G. M. S; Galvao, C. E; Gelson, L. D; Araujo, F. R; Cleber, O. S. 2016. Polymorphisms in the Prion Protein Gene of cattle breeds from Brazil. 36 (11): 1059 – 1066.
11. Laurindo, E. E. y Barros, I. R. F. 2017. Encefalopatía Espongiforme Bovina atípica: uma resisao. 84, 1 – 10.
12. Toro, G. Pacheco, O. E; Sierra, U. E; Beltrán, M; Díaz, A. Parra, E. A; Bonilla, E. 2005 Encefalopatías subagudas espongiformes transmisibles. 21 (2): 134 – 162.
13. Delgado, J. E; Rangel, S; Ponce, S. L. 2002. Encefalopatías Espongiformes Transmisibles 44 (1): 69 – 75.
14. Mendes, J. A. y Ribeiro, A. L. 2001. Efeitos dos estrogénios sobre a cognicao, o humor e as doenças cerebrais degenerativas. 41 (2): 221 – 228.

15. Rodrigues, D. L.; Barros, I. R. F.; Warth, R. D. O. 2013. Análise das importações brasileiras como factores de risco de difusão da encefalopatía espongiforme bovina no país. 80 (1): 51 – 57.
16. Peralta, O. A. 2011. Biología del Prion y Encefalopatía Espongiforme Bovina. 43: 99 – 109.
17. Vera, L. J. M. 2001. El “mal de las vacas locas”. Un tema de bioética en los nuevos escenarios. 7 (2): 225 – 231.
18. Brun, A.; Castilla, J.; Torres, J. M. 2000. Encefalopatías Espongiformes Transmisibles en animales. 31 (2): 133 – 137.
19. Bolaños, R. E.; Rodríguez, N. Rodríguez, D.; Delgado, C. Capdevila, Y. Abeledo, M. A. 2011. La Vigilancia Activa y Pasiva de la Encefalopatía Espongiforme Bovina en Cuba. 33 (2) 104 – 110.
20. Mello, M. B. V. y Furquim, P. A. 2002. Segurança do alimento e rastreabilidade: o caso bse. 1 (2): 1 – 17.
21. Lewin, S.; Perna, A.; Salomon, R.; Ketzoian, C.; Salinas, D.; Rodríguez M. M.; Mañana, G. 2012. Enfermedades priónicas en el ser humano en Uruguay: registro de los últimos 25 años. 28 (1): 35 – 42.
22. Toro, G. G.; Sierra, U. E. Z.; Gómez, L. A. G. 2015. Teoría Prion – Enfermedades Priónicas. 31 (1): 101 – 112.
23. Ramos, P. R. X.; Jardim, J. O. B.; Federizzi, L. C. Andrightto, M. E.; Rocha, P. M. 2011. Advantages and challenges for Brazilian export of frozen beef. 40 (1): 200 – 209.
24. Lupi, O. 2003. Prionic disease: evaluation of the risks involved in using products of bovine origin. 78 (1): 7 – 18.

25. Organización mundial de sanidad animal (OIE). 2018 Encefalopatía Espongiforme Bovina. [En línea]. <http://www.rr-americas.oie.int/normas/> (Fecha de consulta 16 / diciembre / 2018).
26. Organización mundial de sanidad animal (OIE). 2018 Encefalopatía Espongiforme Bovina. [En línea]. <http://www.rr-americas.oie.int/sanidad-animal/estatus-sanitario-oficial/> (Fecha de consulta 16 / diciembre / 2018).
27. Organización mundial de sanidad animal (OIE). 2018 Encefalopatía Espongiforme Bovina. [En línea]. <http://www.rr-americas.oie.int/sanidad-animal/informacion-de-enfermedades/> (Fecha de consulta 13 / enero / 2019).
28. NOM-060-ZOO-199. Especificaciones y procedimientos para la transformación de despojos animales y su empleo en la alimentación animal.
29. NOM-061-ZOO-199. Especificaciones zoosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal.
30. Sánchez V; K. O. 2013. "Monitoreo de Encefalopatía Espongiforme Bovina en el Municipio de Torreón Coahuila. Tesis. Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México. P 2 – 21.