

ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA

REVISIÓN DE LITERATURA

Paredes M P ¹, Pelaez L M ¹, González H E ²

Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Universidad Nacional de Colombia.

RESUMEN

La encefalopatía espongiforme bovina es una enfermedad degenerativa de progresión lenta que afecta el sistema nervioso central de los bovinos y hace parte de una familia de enfermedades conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles. La encefalopatía espongiforme bovina se reconoció oficialmente en 1986 en Gran Bretaña, la epidemia fue causada por alimentación del ganado con proteína animal contaminada con un agente similar al Scrapie. Han sido propuestas diferentes teorías sobre la naturaleza del agente pero la más aceptada es la de la proteína anormal resistente a la proteinasa K o prión. Esta enfermedad afecta animales de ambos sexos y mayores de 24 meses de edad. Se manifiesta con cambios del comportamiento, hipersensibilidad a estímulos externos, anormalidades locomotoras, ataxia, recumbencia y muerte. Actualmente el diagnóstico de esta enfermedad está basado en pruebas post-mortem y existen diferentes técnicas de laboratorio. La diseminación de esta enfermedad a diferentes países del mundo hace necesario que los países que no tienen esta enfermedad tomen medidas de prevención y control.

Palabras claves: Prión, Scrapie, Encefalopatía espongiforme bovina.

BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY

SUMMARY

Bovine spongiform encephalopathy is a slowly progressing degenerative disease affecting the central nervous system of cattle and belong to a family of

diseases known as the transmissible spongiform encephalopathies. Bovine spongiform encephalopathy was first diagnostic in 1986 in Great Britain. The epidemic was caused by feeding cattle with ruminant derived protein contaminated by an scrapie-like agent. Different theories on the nature of the agent have been proposed but the more accepted is the abnormal proteinase K resistant protein or prion. Affected animals are of both gender and older than 24 months. Clinically, the animals display changes in behavior, hypersensitivity to stimulates, changes in posture, ataxia, recumbence and death. The diagnosis of bovine spongiform encephalopathy is postmortem and several laboratory technics are variable. The expansion of bovine spongiform encephalopathy to different countries of the world made necessary that countries which don't have this disease to take various measures of control.

Key Words: Prion, Scrapie, Bovine spongiform encephalopathy.

1 Médico Veterinario , pilarmedvetahoo.com, limapecoahoo.com.

2 Médico Veterinario Zootecnista, Ms. C. Ph.D. Docente Universidad Nacional, Universidad de LASALLE, Instituto Colombiano Agropecuario ICA..

INTRODUCCIÓN

El primer caso de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) se reportó en el Reino Unido en noviembre de 1986, aunque el primer caso clínico ocurrió en abril de 1985 (Kimberlin, 1993). Desde ese momento la enfermedad se convirtió en una epidemia a gran escala y solo hasta 1988 se tomaron medidas de control que contribuyeron a la disminución de casos; esto se evidenció por la presentación de 1000 casos por semana entre 1992-1993 hasta llegar a 100 casos por mes en 1998. A pesar de esto la enfermedad se propagó a otros países de Europa y recientemente a Asia. Hasta la fecha se han reportado 182.802 casos en el Reino Unido y en otros países 3913 casos (OIE, 2003).

La EEB es una enfermedad neurodegenerativa de progresión lenta y fatal. Afecta animales de ambos sexos y mayores de 24 meses de edad. Se manifiesta con cambios en el estado mental, anormalidades locomotoras e hipersensibilidad a estímulos externos, en los estados terminales los animales presentan parálisis espástica, coma y finalmente mueren (Wilesmith, 1988).

El origen de la enfermedad está relacionado con el consumo de concentrado contaminado con tejidos de animales con Scrapie, debido a que en el procedimiento de extracción de las grasas de las harinas de carne y de hueso se cambió la temperatura y la presión permitiendo la persistencia del agente etiológico del Scrapie y la posibilidad de infectar otras especies a través de la cadena alimenticia (Pattison, 1998). Esta enfermedad hace parte de un grupo de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET), las cuales se caracterizan por ser causadas por un agente no convencional, por tener un periodo de incubación largo y curso clínico progresivo con desenlace fatal. Morfológicamente la enfermedad se caracteriza por degeneración vacuolar del sistema nervioso central y ausencia de respuesta inmune (Cane, 1994).

Las pérdidas económicas asociadas a EEB no solamente radican en la morbilidad y mortalidad, probablemente las repercusiones más importantes para los países radican en la limitación a los productos y subproductos para los mercados internacionales (Brown, 2001).

Actualmente la histopatología no es la única herramienta diagnóstica para esta enfermedad, existen diferentes técnicas diagnósticas para confirmar la presencia de esta enfermedad especialmente post-mortem, aunque se está trabajando en una herramienta diagnóstica en animales vivos (Defra, 2002).

ETIOLOGÍA

Existen varias teorías sobre el agente que causa la EEB, la de un virus no convencional, la de un virino, la de príon o partícula proteica y la de virus filamentoso no convencional. La mas aceptada es la teoría del príon

desarrollada por Prussiner y colaboradores en la década de 1970, la cual explica que esta es una proteína que se encuentra de forma normal (PrPc) en membranas celulares especialmente de neuronas; principalmente se relaciona con mamíferos pero también se ha detectado en peces y aves. La PrPc tiene una estructura alfa con hélices en espiral a diferencia de la PrPsc (proteína infecciosa) la cual tiene una estructura beta plegada; este cambio conformacional se debe a que existen regiones de aminoácidos en la forma alfa que al ser infectados por la forma beta se despliegan convirtiéndose en una nueva proteína infecciosa que continuara con esta propagación en cadena (Fig 1) (Prussiner, 1995). Se llegó a la hipótesis del prión por medio de diferentes pruebas realizadas por De Armond y Prussiner con ratones, demostrando una alta frecuencia de transmisión de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) al utilizar ratones que transportaban un gen PrP quimérico (ratón/humano), más que al utilizar ratones silvestres o transgénicos que solo transportaban el gen PrP humano y lo expresaban (Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentación, Argentina, 1997).

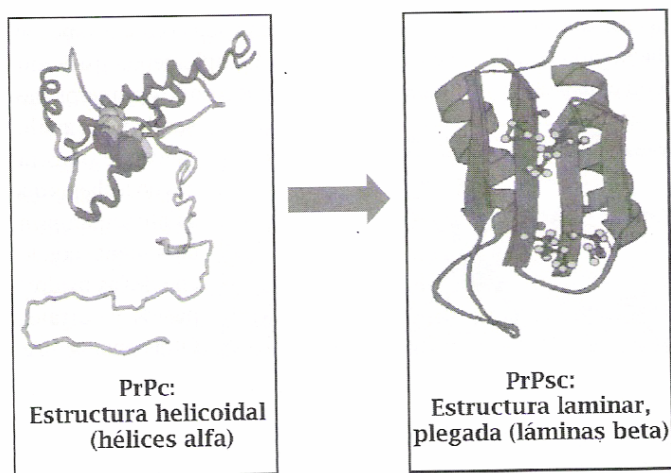


Fig. 1. Conformación estructural de la proteína normal (PrPc) y anormal (PrPsc), fuente Durán, 2003.

Las enfermedades causadas por priores se conocen de tiempo atrás, entre ellas el Scrapie que afecta ovejas y cabras la cual fue descubierta en 1732, pero solo hasta 1936 se demostró las características de su transmisibilidad; la encefalopatía transmisible del visón que se reporta desde 1965; el Kurú reconocida en 1966 en una pequeña población nativa de Nueva Guinea que practicaba el canibalismo; la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) reconocida en 1968, que afecta humanos mayores y de la cual se presentó una

variante que afecta personas mas jóvenes y está relacionada con la EEB; el Síndrome Gerstmann-Straussler el cual es la forma familiar del CJD y se conoce desde 1981 y la enfermedad debilitante crónica reconocida en 1983 en los estados de Colorado y Wyoming en Estados Unidos y que afecta ciervos y alces (Kimberlin, 1993).

EPIDEMIOLOGÍA

La EEB se reconoció oficialmente en 1986 aunque análisis retrospectivos demostraron la presentación de algunos casos en abril de 1985. A partir de este momento se inició una vigilancia confirmándose 130 casos en el Reino Unido a finales de 1987. Solo hasta junio de 1988 la EEB se declaró como una enfermedad de notificación obligatoria lo que aumento la cifra de casos confirmados de 60 casos por mes a 50-60 casos por semana, llegando a más de 20.000 casos a finales de 1990 (Fig. 2)(OIE, 1996).

Las investigaciones indicaron que el inicio de la EEB no estaba relacionado con la importación de ganado, ni con el uso de semen o con el movimiento de animales reproductores entre hatos. Se llegó a la conclusión de que los ovinos con Scrapie eran el origen de la infección (Wilesmith, 1988). Con el seguimiento de varios casos se demostró como un factor común, la alimentación con concentrados y suplementos proteicos que se adicionaban a los alimentos en las granjas, basados en harinas de carne y de hueso. Se demostró que estas eran el vehículo de infección porque la propiedades físico-químicas del Scrapie están más relacionadas con la parte proteica del los tejidos animales. La mayor presentación de casos fue en las regiones donde se producían estas harinas y en las áreas cercanas (Wilesmith, 1988).

Para el tratamiento de las harinas de carne y de hueso, antes de 1980, se utilizaba una temperatura de 70°C durante 8 horas, la aplicación de vapor a altas temperaturas durante 15 a 30 minutos y el uso de disolventes para la extracción. Estos pasos eran una forma de disminuir la infecciosidad del agente del Scrapie; la disminución de estas temperaturas y la eliminación del

uso de disolventes marcaron el inicio de la epidemia de la EEB (Kimberlin, 1992, Taylor, 1998). Las prácticas de alimentación también fueron un factor común en la presentación de los casos, ya que la enfermedad se evidenció más en animales de razas lecheras, no por tener una sensibilidad especial, sino por el hábito de suplementar estos animales con concentrado en los primeros meses de vida, a diferencia de otras razas no lecheras que se alimentan principalmente con leche de las madres, pastos y forrajes. Otra conclusión es que a mayor cantidad de animales en un hato, se aumenta la probabilidad de infección debido al uso de mayores cantidades de alimentos que pueden estar contaminados (Wilesmith, 1992).

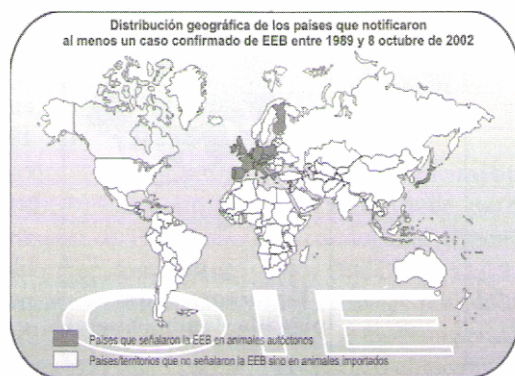


Fig. 2. Distribución geográfica de EEB, fuente OIE.

El largo período de incubación de esta enfermedad contribuyó a la presentación de más casos, porque no se podía detectar de forma temprana y esto retardó la instauración de medidas preventivas (Braun, 1999).

Aunque está claro que el Scrapie es el origen de la EEB, un evento que aumentó la presentación de la enfermedad y la convirtió en endémica fue el hecho de que al existir casos no identificados en bovinos, y permitir la entrada de estos animales infectados a la cadena alimenticia, se propagó de forma rápida entre la población bovina, por ser una enfermedad propia de la especie (Wilesmith, 1988).

TRANSMISIÓN

Para determinar la infectividad de diferentes órganos, se han realizado pruebas biológicas en las cuales se han inoculado por vía oral o parenteral (intracerebral) a ratones transgénicos tejidos contaminados con PrPsc con el fin de observar si se desarrollan signos de la enfermedad y lesiones histológicas en el sistema nervioso central. En 1988 se demostró que la EEB se transmitía a los ratones por medio de inoculaciones de tejido encefálico y posteriormente se identificaron como infecciosos los siguientes tejidos: cerebro, retina, ganglio trigémino, médula espinal y el íleo distal. Otros tejidos que pueden estar infectados son las tonsilas y el intestino (desde el duodeno hasta el recto). Estudios que se realizaron inyectando sangre de casos clínicos de EEB intracerebralmente en ratones demostraron que no produce infección (Wilesmith, 1991).

Los tejidos en los cuales no se detectó infectividad fueron: la sangre, el fluido cerebroespinal, el tejido adiposo, el esófago, el rumen, el retículo, el omaso, el abomaso, el corazón, el riñón, el hígado, el pulmón, los ganglios linfáticos (prefemoral y retrofaríngeo), el músculo, los nervios de la cauda equina y los periféricos, el páncreas, la tráquea, la piel, los ovarios, la placenta, los fluidos placentarios, la ubre, el epidídimo, la próstata, la vesícula seminal, los testículos, el semen y la leche (Taylor, 1998, Wilesmith, 1991). Otras especies han sido afectadas por la EEB, ocurriendo algunos casos en antílopes y felinos (gatos, tigres, pumas y ocelotes) y experimentalmente se ha identificado en ratones, cerdos, ovejas y cabras (Baker, 1993, Willoughby, 1992, Bratberg, 1995, Ryder, 2001).

SIGNOS CLÍNICOS

La manifestación de la enfermedad es un conjunto de signos neurológicos y sistémicos. Los neurológicos pueden agruparse en tres: cambios del estado mental, que se manifiestan con ansiedad y nerviosismo ante objetos del entorno; disfunciones locomotoras con ataxia del tren posterior, apoyo de la cabeza, movimientos excesivos de las orejas, temblores, debilidad, dificultad

para levantarse e hipersensibilidad a estímulos externos. Estos síntomas se pueden presentar conjuntamente en un mismo caso (Kimberlin, 1993).



Fig. 3. Síntomas clínicos de animales con EEB, fuente Durán, 2003.

Los signos sistémicos mas frecuentes son: la pérdida de masa corporal, la pérdida de peso, la disminución de la producción de leche, bruxismo, incremento en la salivación, reducción de la rumia, eructos no efectivos, odontoprisis y alteraciones de la frecuencia cardiaca que pueden ser mediados por lesiones en el nervio vago (Fig. 3) (Austin, 1993 y 1997, Braun, 1998, 1999, Zeidler, 1998). El periodo de incubación es de dos a ocho años, la enfermedad clínica desde el inicio de los síntomas puede durar de dos semanas a un año y el promedio de duración es de uno a dos meses. A medida que avanzan los síntomas el animal llega aun estado de postración y muerte. (Kimberlin, 1992).

PATOGÉNESIS

Los priones al ingresar a un organismo son capaces de convertir la proteínas normales en formas anormales, el cambio conformacional entre la PrPc y la PrPSc esta dado por alteración en la estructura proteica, la PrPc está formada por hélices *alfa* y tiene una estructura en espiral, la PrPSc está constituida por hebras *beta*, las cuales forman regiones plegadas. La unión de las hebras beta origina la estructura de hoja plegada beta, la cual confiere resistencia a la degradación por proteasas. El cambio de estructura, de alfa a beta puede ser originado por la propiedad de tres de los cuatro péptidos sintéticos de las regiones alfa para cambiar a la forma beta o por la capacidad de los péptidos

sintéticos de la hoja beta de transformar la hélice alfa. Este proceso ocurre de forma exponencial desde el momento que una PrP^{Sc} entra en contacto con una PrP^C del huésped (Prussiner, 1995).

La enfermedad neurodegenerativa es causada por la acumulación excesiva del prión en los lisosomas de las neuronas, estos se lisan, dañan las células y liberan las PrP^{Sc}, estas entran en contacto con las PrP^C de otras células cambiando su conformación estructural proteica convirtiéndolas en infecciosas. La acumulación de la PrP^{Sc} es posible por su bajo peso molecular (27 a 30 kD) y por ser resistente a la proteasa. Esta es una reacción en cadena en todas las PrP^C (OIE 1996, Prussiner, 1992 y 1995). Después del daño celular se acumulan fragmentos de PrP^{Sc} en forma de placas amiloideas dentro del cerebro, aunque no siempre están presentes en los animales afectados (Simmons, 1998, Zeidler, 1998).

El mecanismo de infección es por vía oral, al ser consumido en harinas de carne y de hueso procedentes de animales portadores del prión. El agente puede entrar por las placas de Peyer o por terminaciones nerviosas, ingresa al bazo y después al sistema nervioso simpático por fibras simpáticas de los nervios esplénicos en la región torácica de la médula espinal, ascendiendo al encéfalo y al sistema nervioso central vía nervio vago. El prión se disemina por todo el organismo durante el periodo de incubación sin ser reconocido como extraño por el sistema inmune, ya que por su similitud con la PrP^C no es antigénico y tampoco es un factor inmunosupresor (Bradford, 1996, OIE, 1996, Prussiner, 1995).

El prión no ha sido encontrado en la leche, en la placenta, en el líquido amniótico ni en el semen de los animales infectados (Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentación, Argentina, 1997). Se ha demostrado que existe el riesgo de transmisión intrauterina. El riesgo es del 10% cuando la vaca se encuentra en los últimos seis meses de incubación de la enfermedad y solo de 1% cuando esta alrededor de los 60 meses de incubación de la enfermedad. Según esto el riesgo de transmisión vertical es mayor cuando la enfermedad ha avanzado (Donnelly, 1998, Scott, 1995).

ANATOMOPATOLOGÍA

La EEB se caracteriza por ausencia de lesiones macroscópicas, alteraciones bioquímicas y hematológicas (Aldridge, 1988). Microscópica y molecularmente hay cambios característicos en el sistema nervioso central, principalmente en los núcleos paraventriculares, de la médula oblonga y la base del cerebro (Simmons, 1998). Dentro de a lesiones microscópicas la mas característica es la vacuolización bilateral y simétrica de las neuronas tanto en los axones como en los cuerpos celulares y se localiza principalmente en la formación reticular, en los núcleos medial-vestibular, el núcleo lateral cuneado y los núcleos papiliformes. La hipertrofia de los astrocitos es otra de las lesiones observadas así como la presencia de placas amiloideas en una pequeña proporción de casos. Los cambios se presentan con mayor frecuencia en la médula oblonga, la sustancia gris central del mesencéfalo y el área paraventricular del hipotálamo, el tálamo y el área septal (Fig. 4 y 5) (Kimberlin, 1993, Wells, 1989).

Por medio de microscopia electrónica se observan numerosas vacuolas intracelulares unidas a las membranas, principalmente en dendritas, también acumulaciones de neurofilamentos, mitocondrias y cuerpos electrodensos en dendritas y axones y estructuras tubulo-vesiculares unidas a la membrana. A través de técnicas moleculares se observan fibrillas asociadas a Scrapie (FAS) en extractos de cerebros afectados (Liberski, 1990, Wells, 1987).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EEB se realiza por el examen histológico del tallo encefálico. La confirmación del diagnóstico de la enfermedad por microscopía de luz concuerda hasta en un 80% con el diagnóstico clínico si este último se ha realizado teniendo en cuenta el curso de la enfermedad y los antecedentes del hato (Braun, 1998 y 1999). El diagnóstico clínico también se puede confirmar por microscopia electrónica, por detección inmunohistoquímica, por detección bioquímica y por la técnica western blotting de las FAS. La prueba

de mayor sensibilidad es la histopatología como diagnóstico post-mortem (Braun, 1998 y 1999, Cane, 1994).

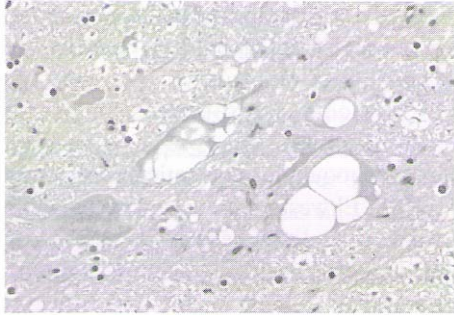
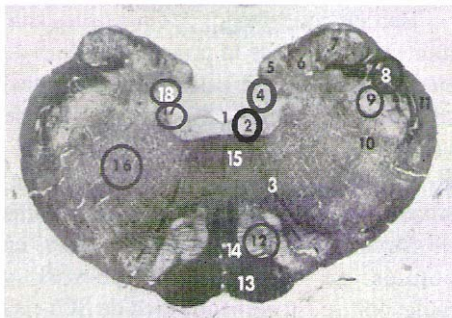


Fig 4. Lesión microscópica de EEB, Fuente: Durán, 2003.

Las FAS derivan de la PrPc que es una glicoproteína de membrana, que es codificada por el huésped y está presente en muchos tejidos principalmente en el cerebro, se pueden detectar por medio de microscopía electrónica, por western blotting con electroforesis en gel de poliacrilamida y por coloración inmunocitoquímica con anticuerpos contra las FAS. El western blotting detecta PrPSc purificada de cerebros a través de anticuerpos específicos contra esta proteína anormal; la inmunocitoquímica tiene el mismo principio y se ha utilizado en cerebro, tercer párpado y tonsilas de ovejas (Cane, 1994, Miller, 1993).



- 4 → Núcleo parasimpático del nervio vago
- 8-9 → Núcleo y tracto espinal del nervio trigémino
- 12 → Núcleo de la oliva
- 16 → Formación reticular
- 17-18 → Núcleo y tracto solitario
- 2 → Núcleo motor del hipogloso

Fig. 5. Núcleos de la médula oblonga para el diagnóstico de EEB, Fuente: Durán, 2003.

Las técnicas de diagnóstico frecuentemente empleadas son las de ELISA (prueba inmunoenzimática) las cuales detectan la proteína infecciosa, se ha

trabajado en médula espinal y cerebro de animales sacrificados. Experimentalmente se ha comprobado su utilidad al usar estas pruebas en pared del intestino delgado. Estas pruebas han demostrado ser de alta sensibilidad y especificidad y suministran un diagnóstico rápido (4 – 24 horas). (European comision, 1999).

Han surgido métodos de diagnóstico ante mortem como el de la proteína ligadora de calcio S-100b, de bajo peso molecular la cual se encuentra en varias especies de vertebrados; tiene 3 isoformas y se encuentra en alta concentración en el sistema nervioso central, en su mayoría en el citoplasma de astrocitos y en más bajas cantidades en células de Schwann, adipositos y melanocitos. En el diagnóstico de SCJ esta proteína se encontró aumentada y por esto se implementó como método diagnóstico para EEB a partir de sangre y de líquido cefalorraquídeo (LCR). En estos estudios se demostró el aumento en sangre y en LCR de esta proteína por medio de un ELISA en animales positivos a EEB (Green, 1999). Otra de estas proteínas es la 14-3-3, detectada en el LCR de pacientes con SCJ; se piensa que esta proteína se origina en las neuronas. Se han realizado pocos estudios por medio de un inmunoensayo para detectar bandas inmunoreactivas 14-3-3 en LCR de casos de EEB pero estos resultados no tienen concordancia, ya que en un estudio se encontró esta proteína aumentada en animales con EEB pero en estudios posteriores se concluyó que la detección de la proteína 14-3-3 en la neurodegeneración asociada a EEB en ganado con síntomas tempranos no es significativa (Lee, 1997, Robey, 1998).

También se han efectuado bioensayos con ratones para determinar la presencia de EEB, a partir de diferentes tejidos de bovinos infectados con EEB. Se ha ensayado con íleon distal, SNC (cerebro y médula espinal), raíces de ganglios dorsales, ganglios sensitivos y ganglios trigéminos y como tejido reciente la médula ósea del esternón. A partir de estos tejidos se obtiene una suspensión la cual es inoculada intracraneal e intraperitonealmente en los ratones y después de 650 o 950 días se examinaban por medio de histopatología para detectar cambios espongiiformes y por medio de métodos

inmunohistoquímicos lo cual fue confirmado por los resultados obtenidos (Miller, 1993, Wells, 1999).

Las pruebas In-vivo aun continúan en investigación, entre ellas están las pruebas para detectar marcadores metabólicos o fisiológicos específicos de la enfermedad en la orina, estas son sustancias secundarias como resultado de la enfermedad. Estos marcadores también pueden identificarse en la sangre aunque aún no se ha establecido si es específico para EEB o Scrapie. Otra nueva prueba es la electroforesis inmunocapilar (ICE), desarrollada por Mary-Jo Schmerr del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) la cual trata de diagnosticar la enfermedad por medio de pequeñas muestras de sangre en animales vivos. Los experimentos de estas pruebas se han hecho especialmente para Scrapie pero aun falta validarla. Existe otra prueba la cual se basa en detectar ciertas proteínas que se liberan en gran cantidad en fluido cerebroespinal en enfermedades del sistema nervioso central como CJD y EEB.

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Cuando se presentan casos de animales con el cuadro neurológico de EEB, se debe pensar en otras patologías que pueden tener síntomas similares, pero estas se descartan porque el curso clínico es muy prolongado y porque no hay respuesta al tratamiento instaurado ni a medidas de manejo; aunque siempre es necesario confirmar el diagnóstico con histopatología. Las enfermedades a tener en cuenta son: enfermedades metabólicas como cetosis e hipomagnesemia, rabia, listeriosis, tumores cerebrales, polioencefalomalacia e intoxicación por plomo (Cockcroft, 1999).

PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención de la EEB se basa en el control de factores de riesgo como evitar la alimentación con concentrados contaminados con PrPsc y la importación de animales de países que tengan la enfermedad; se debe prohibir la utilización de proteína de origen animal en la elaboración de

alimentos para rumiantes y también se debe restringir el consumo de vísceras bovinas en los humanos. En caso de presentarse la enfermedad se deben sacrificar los animales e incinerar sus restos. Por la naturaleza del agente no ha sido posible la elaboración de vacunas y tampoco existe tratamiento. A pesar de que no se ha demostrado la transmisión materna de esta enfermedad, se han instaurado otras medidas preventivas en el manejo del ganado; estas consisten en que las terneras nacidas de vacas infectadas no se utilicen como hembras de reemplazo y que durante el parto se tomen medidas de higiene, además de enterrar o incinerar la placenta (Kimberlin, 1993).

BIBLIOGRAFIA

1. Aldridge B, Scott P, Holmes L, Milne E and Collins D. Elevated plasma glucose concentration in a case of bovine spongiform encephalopathy. *Vet Record* 122: 71-72, 1988.
2. Austin A, Pawson L, Meeks S and Webster S. Abnormalities of heart rate and rhythm in bovine spongiform encephalopathy. *Vet Record* 141: 352-357, 1997.
3. _____ and Simmons M. Reduced rumination in bovine spongiform encephalopathy and scrapie. *Vet Record* 132: 324-325, 1993
4. Baker H, Ridley R and Wells G. Experimental transmission of BSE and scrapie to the common marmoset. *Vet Record* 132: 403-406, 1993.
5. Bratberg B, Ueland K and Wells G. Feline spongiform encephalopathy in a cat in Norway. *Vet Record* 136: 444, 1995.
6. Braun U, Schicker B and Hörnlmann, B. Diagnostic reliability of clinical signs in cows with suspected bovine spongiform encephalopathy. *Vet Record* 143: 101-105, 1998.

7. _____, Amrein E and Estermann U. Reliability of a diagnosis of BSE made on the basis of clinical signs. *Vet Record* 145: 198-200, 1999.
8. Brown P, Will R, Bradley R, Asher D and Detwiler L. BSE and variant Creutzfeldt-jakob disease: Background, Evolution and Current concerns. *Emerg Infect Dis* 7: 6-16, 2001.
9. Cane B, Carrillo B, Gimeno E, Nader A, Schudel A, Ulloa E, Van Gelderren C, Viera J and Weber E. Servicio Nacional de Sanidad Animal / Vigilancia Epidemiológica sobre BSE en Argentina. 1994
10. Cockcroft PD. Pattern-matching models for the differential diagnosis of bovine spongiform encephalopathy. *Vet Record* 144: 607-610, 1999.
11. Diringer H. Proposed link between transmissible spongiform encephalopathies of man and animals. *Lancet* 346: 1208-1210, 1995.
12. Donnelly CA Maternal transmission of BSE: interpretation of the data on the offspring of BSE-affected pedigree suckler cows. *Vet Record* 142: 579-580, 1998.
13. Duran A. Jornadas Académicas. Universidad de la Salle, mayo 2003.
14. Green A, Jackman R, Marshall T and Thompson E. Increased S-100b in the cerebrospinal fluid of some cattle with bovine spongiform encephalopathy. *Vet Record* 145: 107-109, 1999.
15. Haritani M, Spencer Y and Wells G. Hydrated autoclave pretreatment enhancement of prion protein immunoreactivity in formalin-fixed BSE-affected brain. *Acta Neuropathol* 87: 1994.
16. Lee K and Harrington M. 14-3-3 and BSE. *Vet Record* 140: 206-207, 1997.
17. Liberski P. Ultrastructural neuropathologic features of bovine spongiform encephalopathy. *J Am Vet Med Assoc* 196: 1682, 1990.

18. Miller J, Jenny A and Taylor W . Immunohistochemical detection of prion protein in sheep with Scrapie. J Vet Diag Investig 5: 309-316, 1993.
19. Oficina Internacional de Epizootias / Revista científica y técnica OIE. EET de los animales. Vol11, No 2,1992.
20. Pearson G, Wyatt J, Gruffydd-Jones T, Hope J, Chong A, Higgins R, Scott A and Wells G. Feline spongiform encephalopathy: fibril and PrP studies. Vet Record 131: 307-310, 1992.
21. Prusiner SB. Priones. Investigación y Ciencia. 1992
22. _____. El Prión en la Patología. Investigación y Ciencia. 1995
23. Robey W, Jackson R, Walters R, Brackett J, Harrington C and Killian W. Use of cerebrospinal fluid levels of 14-3-3 in predicting neurodegeneration in confirmed BSE symptomatic cattle. Vet Record 143: 50-51, 1998.
24. Ryder S, Wells G, Bradshaw J and Pearson G. Inconsistent detection of PrP in extraneural tissues of cats with feline spongiform encephalopathy. Vet Record 148: 437-441, 2001.
25. Scott P, Penny C and Sargison N. Bovine spongiform encephalopathy in a Holstein cow born in the United Kingdom during September 1989. Can Vet J 36: 310-311, 1995.
26. Secretaria de agricultura, ganaderia, pesca y alimentacion/ Argentine scientific advisory committee on BSE (1st meeting). Abril 7,8,9,10. Buenos Aires, Argentina, 1997
27. Simmons M, Harris P, Jeffrey M, Meek S, Blamire I and Wells, G. BSE in Great Britain: consistency of the neurohistopathological findings in two random annual samples of clinically suspect cases. Vet Record 138: 175-177, 1996.

28. _____, 5to International workshop on the diagnosis of spongiform encephalopathies. Oct, 26-30, 1998. VLA Weybridge.

29. Taylor D and Fernie K. Solvent extraction as an adjunct to rendering: the effect on BSE and Scrapie agents of hot solvents followed by dry heat and steam. Vet Record 143: 6-9, 1998.

30. Wells G and Hawkins S. Limited detection of sternal bone marrow infectivity in the clinical phase of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE). Vet Record 144: 292-294, 1999.

31. _____, Hancock R, Cooley W, Richards M, Higgins R and David G. Bovine spongiform encephalopathy: diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. Vet Record 125: 521-524, 1989.

32. _____, Sott A, Johnson C, Gunning R, Hancock R, Jeffrey M, Dawson M and Bradley R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet Record 121: 419-420, 1987.

33. Wilesmith J, Ryan J, Hueston W and Hoinville L. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological features 1985-1990. Vet Record 130: 90-94, 1992. 34. _____, Ryan J and Atkinson M. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. Vet Record 128: 199-203, 1991.

35. _____, Wells G, Cranwell M and Ryan J. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. Vet Record 123: 638-644, 1988.

36. Willoughby K, Kelly D, Lyon D and Wells G. Spongiform encephalopathy in a captive puma (*Felis concolor*). Vet Record 131: 431-434, 1992.

37. www.defra.gov.uk/animalh/bse/. Bovine spongiform encephalopathy

38. Zeidler M, Gibbs C and Meslin F. WHO Manual for Strengthening Diagnosis and Surveillance of Creutzfeldt-Jakob Disease World Health Organization. Department of Surveillance and Response/Programme of Communicable Diseases, Suiza, pp. 5-31, 40-43 ,1998.