

ARTÍCULO ORIGINAL

La vigilancia activa y pasiva de la encefalopatía espongiforme bovina en rebaños de bovinos introducidos en Cuba

R. Bolaños Escofet^I, N. Rodríguez^{II}, Dalia Rodríguez^{II}, C. Delgado^{II}, R. Herrera^{III}, Ma. Antonia Abeledo^{IV}

^IInstituto de Medicina Veterinaria. Dirección General. Servicio Veterinario de Frontera. Calle 12 No.355 e/ 15 y 17, Vedado CP 10 400, La Habana, Cuba. Correo electrónico: rbescofet@infomed.sld.cu; ^{II}Centro Nacional de Epizootiología,

Diagnóstico e Investigaciones (CENEDI). Avenida 51 No. 33 222, Arroyo Arenas, La Lisa, La Habana, Cuba;

^{III} Instituto de Medicina Veterinaria. Servicio Veterinario de Frontera. Provincia La Habana;

^{IV}Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, CP 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

RESUMEN: En Cuba, el programa de vigilancia activa y pasiva de la encefalopatía espongiforme bovina se implementa en el mes de noviembre del año 2002, con su generalización en todo el territorio nacional. El presente estudio muestra los resultados obtenidos en la vigilancia activa y pasiva de la encefalopatía espongiforme bovina en rebaños de bovinos introducidos en el país, procedentes de países definidos como de riesgo controlado. Durante el período del 2005 al 2010 se investigaron 219 encéfalos bovinos pertenecientes a ambos tipos de vigilancia, cumpliendo con los datos de remisión establecidos y de acuerdo al tipo de vigilancia. Se emplearon las técnicas diagnósticas de histopatología e inmunohistoquímica de forma simultánea y se determinaron las diferentes causas luego de la realización del diagnóstico diferencial de la enfermedad y el establecimiento del diagnóstico confirmativo. Todos los casos investigados resultaron negativos a la enfermedad por la ausencia de lesiones compatibles. A partir de la realización del diagnóstico diferencial de la enfermedad y la emisión del diagnóstico confirmativo se determinan 9 causas fundamentales, siendo las principales por hemoparasitosis, desnutrición e infecciones puerperales. Se demuestra que no hay evidencia de la presencia de la enfermedad en los rebaños de bovinos introducidos en el país.

Palabras clave: epidemiología, vigilancia de la EEB, EEB, técnicas histológica e inmunohistoquímica, diagnóstico.

Active and passive surveillance of bovine spongiform encephalopathy in herds introduced in Cuba

ABSTRACT: In Cuba, the active and passive surveillance program of bovine spongiform encephalopathy (BSE) was implemented in November 2002, with its generalization in all national territory. This study presents the results obtained in the active and passive surveillance of BSE in herds introduced in the country, from countries defined as controlled risk. During the period 2005-2010, two-hundred nineteen brains belonging to both types of surveillance, were analyzed fulfilling with the remission data established and according to the types of surveillance. Histopathology and immunochemistry techniques were used in a simultaneous way and the different causes were determined after carrying out the differential diagnosis of the disease and the establishment of the confirmative diagnosis. All the cases researched were negative to the diseases due to the absence of compatible lesions. From the differential diagnosis, nine main causes were determined in the confirmative diagnosis. The main ones were hemoparasitosis, malnutrition and puerperal infections. In the present study, it has been demonstrated that there is no evidence about the presence of the disease in bovine herds introduced in the country.

Key words: epidemiology, BSE surveillance, BSE, histological and immunochemistry techniques, diagnosis.

INTRODUCCIÓN

La implementación de los programas de vigilancia de cualquier enfermedad, permiten, en primer lugar determinar si la enfermedad en cuestión está presente en el país y como segundo; que en el caso de ser detectada, poderle dar un continuo seguimiento de su evolución y poder aplicar medidas sanitarias apropiadas para lograr la eficacia en su control y erradicación. Por lo antes expuesto, se insiste en la importancia de la vigilancia, la detección y los mecanismos de respuesta sanitaria rápida para contener enfermedades que afecten a la región (1).

En Cuba, el programa de vigilancia de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) se implementa en el mes de noviembre del año 2002, con su generalización en todo el territorio nacional a través de todas las direcciones provinciales y municipales del Instituto de Medicina Veterinaria (IMV); y es aplicado a todos los bovinos del país mayores de 30 meses de edad y a las ovino- caprinas. También es obligatoria su aplicación en todas las poblaciones de rumiantes importados (2,3).

La EEB es considerada como una de las enfermedades emergentes más importantes que han surgido en el planeta y que no sólo ha afectado a la región Europea sino también a Asia, Medio Oriente y América del Norte, con los primeros casos reportados en Canadá en el 2003 y posteriormente en los Estados Unidos de América en el 2005 y 2006.

Durante el período comprendido entre los años del 2001 al 2008, en Cuba se han realizado varias importaciones de bovinos y ovino-caprinos con fines reproductivos, luego de un análisis de riesgo y previo a la autorización de los Servicios Veterinarios de Frontera del Instituto de Medicina Veterinaria. Los bovinos importados procedieron de Canadá y los Estados Unidos de América, los ovinos de los Estados Unidos de América y los caprinos de Canadá y Jamaica.

En el caso de los bovinos importados y teniendo en cuenta las recomendaciones técnicas del Grupo Nacional de Análisis de Riesgo, la Dirección General del IMV, determinó ubicar a todos los animales en la provincia La Habana, con la finalidad de tener un mayor control de los mismos, al proceder de países definidos por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) como de riesgo de EEB controlado (4).

El objetivo del presente estudio es analizar los resultados obtenidos en la vigilancia activa y pasiva de las poblaciones bovinas introducidas en el país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron los casos de encéfalos enviados al Centro Nacional de Epizootiología, Diagnóstico e Investigaciones (CENEDI) procedentes de bovinos importados ubicados y remitidos por la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, cumpliendo con lo establecido en el Anexo 2 del Manual para la vigilancia en Cuba, donde se relaciona el número mínimo de muestras a investigar por años para vigilar eficazmente la enfermedad, en función de la población total de bovinos mayores de 30 meses de edad de la provincia La Habana (3,5) y el Anexo 3 que muestra todos los datos que debe contener la remisión de la muestra de encéfalo al laboratorio (3). El mencionado Manual se encuentra vigente y ha sido editado e impreso en el año 2008 por la Agencia de Información y Comunicación para la Agricultura (Agrinfor) del Ministerio de Agricultura (MINAG) (3).

El presente estudio observacional evalúa el período comprendido entre los años 2005 al 2010 y para el desarrollo del mismo se consideraron las definiciones siguientes:

Vigilancia activa: Encaminada a la búsqueda efectiva de la enfermedad, mediante el control de determinadas poblaciones de los animales de consumo y de riesgo (3).

Vigilancia Pasiva: Encaminada a la búsqueda efectiva de la enfermedad, mediante la investigación de encéfalos de animales que han sido notificados con sintomatología nerviosa a través del Sistema de Vigilancia Epizootiológica (SIVE) del Instituto de Medicina Veterinaria (3).

En el diagnóstico de la EEB se empleó la técnica histopatológica según el protocolo para la realización de la técnica de inclusión y corte en parafina y coloración de hematoxilina- eosina establecido y vigente en las normas NRAG 753/ 1985 y NRAG 863/ 1988 para los laboratorios de diagnóstico de la red nacional del Instituto de Medicina Veterinaria y la técnica de inmunohistoquímica según las descripciones generales del Bovine Spongiform Encephalopathy Antigen Test kit, Immunohistochemistry VMRD, Inc.; con el uso de anticuerpos monoclonales para detectar por inmunohistoquímica la proteína priónica (PrP) en muestras de cerebro bovino.

En el procesamiento de la información se tuvieron en cuenta los resultados emitidos por el CENEDI con el empleo de ambas técnicas diagnósticas, así como el diagnóstico diferencial de la enfermedad, según el Anexo 4 del Manual para la vigilancia activa y pasiva

de la enfermedad en Cuba, donde se listan las principales enfermedades de etiología viral, bacteriana, parasitaria, metabólica, tóxica y por agente no convencional que puedan estar presentes en el país y que afectan a las especies bovina y ovino-caprina (3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra el número de encéfalos de bovinos importados que fueron investigados en el CENEDI según el tipo de vigilancia, durante el período 2005 al 2010. En el caso de la vigilancia pasiva (bovinos bajo sospecha clínica de trastornos nerviosos) se investigaron 32 encéfalos y en la vigilancia activa (bovinos aparentemente sanos sacrificados) 187, para un total de 219 animales investigados. Al comparar el número total de muestras investigadas por años con el número mínimo de exámenes de muestreo establecido en el programa de vigilancia, en torno a una prevalencia ya estimada de la enfermedad de al menos 1 caso por 100 000 de la población total de bovinos mayores de 30 meses de edad de la provincia La Habana, es posible explicar que a excepción del año 2007, los restantes años estudiados superaron la cifra mínima de muestreo que es de 20, por lo que consideramos que el total de muestras investigadas en el período analizado cumple con las recomendaciones de la OIE (5).

Como resultado de la crisis global de la EEB en el año 1996 los primeros casos detectados de la enfermedad fueron reconocidos solamente como resultado de la vigilancia pasiva. Sin embargo, el tiempo ha demostrado que la incidencia clínica de la enfermedad no ha sido un indicador suficientemente significativo para la categorización de los países afectados, ya que junto con el reconocimiento de un simple caso detectado, han ocurrido desproporciones significativas en lo que respecta a las barreras al comercio, además de las recomendaciones de la OIE. Todo esto ha ocasionado un gran desestímulo en el establecimiento de programas de vigilancia y reporte de casos. Estos hallazgos con posterioridad establecieron a la vigilancia activa como un mecanismo por el cual la prevalencia de la enfermedad pudiera ser determinada de manera más efectiva y para establecer tendencias en su seguimiento, así como revelando evidencias tempranas de sucesos o fallos en los controles de alimentos destinados a los rumiantes (6).

En países donde se han reportado pocos casos de EEB se ha podido demostrar que la vigilancia activa ha sido más efectiva que la vigilancia pasiva, pudiéndose valorar de esa manera la incidencia de la enfermedad. Se conoce que para poder cuantificar una baja incidencia de EEB se necesita investigar un gran número

de animales y que éste número de investigaciones es posible reducirlas si se logra identificar a las poblaciones de alto riesgo y así poder establecer un programa de vigilancia óptimo. Luego de la realización de un análisis de riesgo si el resultado es insignificante hay otra razón para dejar de aplicar un programa de vigilancia intensivo y así poder justificar un límite de investigaciones debidamente sustentado en un programa de vigilancia objetivo (7).

Doherr y colaboradores demostraron, que las muestras tomadas de animales de alto riesgo pueden incrementar la sensibilidad de un sistema de vigilancia y que éste es posible mejorarlo al concentrar las investigaciones en un gran número de bovinos bajo sospecha clínica. Otra información relevante pudiera estar centrada con la realización de investigaciones en todos los animales de sacrificio de rutina mayores de 30 meses de edad; los cuales revelaron la enfermedad en países de la Comunidad Europea a inicios del año 2001, confirmándose así la alta incidencia de EEB en el continente Europeo (8).

A partir de los resultados publicados en las investigaciones realizadas por los países Europeos y teniendo en cuenta todas las recomendaciones establecidas en el Código Sanitario para los Animales Terrestres es que se tuvo en cuenta en nuestro programa de vigilancia a las poblaciones bovinas mayores de 30 meses de edad como las de mayor riesgo de contraer la enfermedad (7,8,9).

En la Figura 2 se muestran los resultados del diagnóstico confirmativo de los 32 casos de bovinos investigados bajo sospecha clínica de trastornos nerviosos. Las técnicas diagnósticas empleadas arrojaron resultados negativos y a partir del mismo se pudieron identificar 9 causas fundamentales, siendo las principales: hemoparasitosis, desnutrición e infecciones puerperales.

El diagnóstico diferencial de los trastornos con manifestaciones neurológicas (vigilancia pasiva) es un elemento esencial de la vigilancia epidemiológica y clínica de la EEB (10). Sin embargo el sistema de vigilancia activa puede asumir las limitaciones del sistema de vigilancia pasiva en cuanto a la identificación de posibles casos bovinos sin manifestaciones clínicas de la enfermedad (11).

Aunque en nuestro estudio el 85% de las muestras de encéfalos enviadas al laboratorio fueron procedentes de bovinos aparentemente sanos sacrificados (vigilancia activa) y el 15% a la de bovinos bajo sospecha clínica de trastornos nerviosos (vigilancia pasiva), consideramos necesario comentar que para nuestro programa, ambos tipos de vigilancia son importantes ya

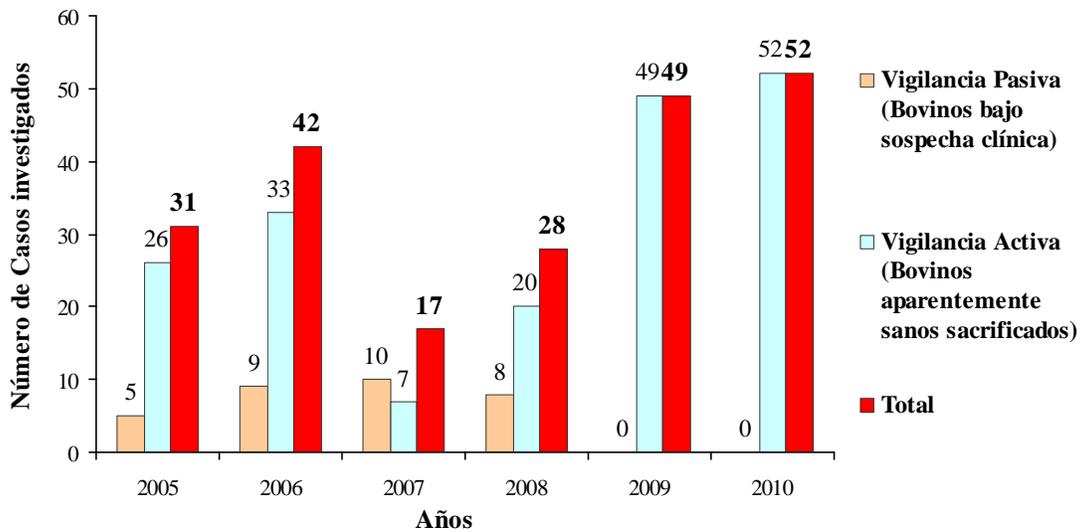


FIGURA 1. Número de encéfalos investigados según el tipo de vigilancia./ *Brains researched according to surveillance type.*

Fuente Oficial: Base de datos SVF del IMV.

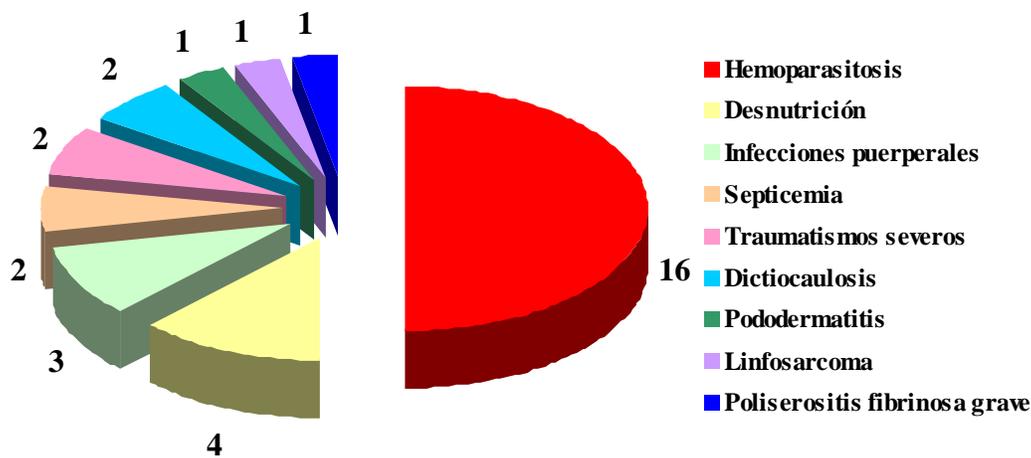


FIGURA 2. Diagnóstico confirmativo emitido por el CENEDI./ *Confirmatory diagnosis issued by CENEDI.*

Fuente Oficial: Base de datos SVF del IMV.

que de una forma u otra todos los bovinos investigados fueron considerados de alto riesgo, por encontrarse en la categoría de edades mayores de 30 meses y por ser animales introducidos en el territorio nacional procedentes de países con riesgo controlado de EEB (4,9,12).

En la Figura 3 se identifica con flechas una marcada reacción perineuronal, típica de las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET). Se muestra el corte histológico de un encéfalo procesado y diagnosticado con Scrapie o prurigo lumbar de las ovejas, el cual es utilizado en el estudio como control positivo de la técnica diagnóstica, al

visualizarse la reacción antígeno-anticuerpo a través de una reacción inmunohistoquímica.

En la Figura 4 se muestra un corte histológico de Obex de un caso remitido al CENEDI bajo sospecha clínica de la enfermedad (vigilancia pasiva), recepcionado con fecha de entrada 07.02.08 y número de caso 626. La muestra perteneció a un bovino hembra, importado de los Estados Unidos de América, mayor de 30 meses de edad, raza Holstein, categoría vaca.

En los 219 casos estudiados por tipo de vigilancia y con el empleo de ambas técnicas diagnósticas se observó ausencia de lesiones compatibles con EEB.

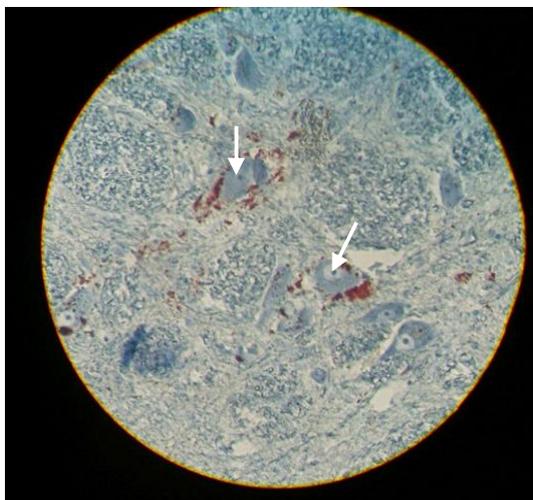


FIGURA 3. Reacción perineuronal positiva. Control positivo Scrapie. Inmunohistoquímica, x160./ *Positive perineuronal reaction. Scrapie positive control. Immunohistochemistry X 160.*



FIGURA 4. Obex de bovino importado. No se observa reacción. Inmunohistoquímica, x100./ *Obex of imported bovine. No reaction observed. Immunohistochemistry X 100.*

Los resultados del presente trabajo demuestran que en las poblaciones de bovinos importados e investigados, por ser consideradas de alto riesgo de contraer la enfermedad en el país y por su procedencia de países de riesgo de EEB controlado, no hay evidencia de la presencia de la enfermedad. Esto demuestra que es posible la importación de animales de países considerados de riesgo controlado siempre que se cumplan los requisitos establecidos y el país importador cuente con un sistema de vigilancia de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Jorge Washington López de PANAFTOSA por haber facilitado los bloques de parafina conteniendo encéfalo de ovejas infectadas con Scrapie, fijados en formalina e inactivados con ácido fórmico durante 1 hora, los cuales fueron utilizados como control positivo, en los 219 encéfalos de bovinos introducidos e investigados con la técnica diagnóstica de inmunohistoquímica.

REFERENCIAS

1. Ben JK. Vigilancia, detección y respuesta: lucha contra las enfermedades emergentes en los planos nacional e internacional. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 2004;23(2):709-715.
2. Bolaños R, Rodríguez N, Delgado C, Urquiaga R. Instructivo para la toma y remisión de muestras para Encefalopatía Espongiforme Bovina (Diagnóstico Histopatológico). Instituto de Medicina Veterinaria, La Habana: 2002;1-9.
3. Bolaños R, Rodríguez N, Delgado C, Urquiaga R. Manual para la vigilancia activa y pasiva de la encefalopatía espongiforme bovina. Procedimientos para la toma y remisión de muestras al laboratorio para su diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímico. Instituto de Medicina Veterinaria, La Habana, Agrinfor: 2008;1-30.
4. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Resolución No. XXI. Reconocimiento de la situación sanitaria de los Miembros respecto a la encefalopatía espongiforme bovina. 2008. Disponible en: http://www.oie.int/esp/info_ev/es_BSEHome.htm. [Consulta: 29 de Julio de 2009].
5. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Código Zoonosario Internacional. Recomendaciones del Anexo 3.8.4 sobre sistemas de vigilancia y de seguimiento continuo de la EEB. Undécima Edición 2002; 466-467.
6. Matthews D, Adkin A.. Bovine spongiform encephalopathy: is it time to relax BSE- related measures in the context of international trade. *Rev sci tech Off int Epiz.* 2011;30(1):107-117.
7. de Koeijer AA. Analyzing BSE Transmission to Quality Regional Risk. *Risk Analysis* 2007;27(5):1095-1103.

8. Doherr MG, Heim D, Fatzer R, Cohen CH, Vandeveld M, Zurbriggen A. Targeted screening of high-risk cattle populations for BSE to augment mandatory reporting of clinical suspects. *Prev Vet Med.* 2001;51(1/2):3-16.
9. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Volumen 2. Recomendaciones aplicables a las enfermedades de la lista de la OIE y a otras enfermedades importantes para el comercio internacional. Capítulo 11.5 Encefalopatía Espongiforme Bovina. Decimonovena Edición: 2010;666-688.
10. Saegerman C, Claes L, Dewaele A, Desmecht D, Rollin F, et al. Diagnóstico diferencial de los trastornos con manifestaciones neurológicas de los bovinos de Europa occidental. *Rev sci tech Off int Epiz.* 2003;22(1):61-82.
11. Ducrot C, Arnold M, Koeijer DEA, Heim D, Calavas D. Review on the epidemiology and dynamics of BSE epidemics. *Vet Res.* 2008;39:1-14.
12. Cohen-Sabas CH, Heim D, Zurbriggen A, Stärk KD. Age-period-cohort analysis of the bovine spongiform encephalopathy (BSE) epidemic in Switzerland. *Prev Vet Med.* 2004;66:19-33.
- Recibido: 22-6-2011.**
Aceptado: 2-2-2012.