

¿Pueden los priones transmitirse por la leche?

Recientemente se ha publicado, con títulos indudablemente alarmistas, que la leche puede vehicular los agentes de las encefalopatías espongiformes transmisibles o priones. A pesar de lo inquietante de la posibilidad hay pocas publicaciones en las que se aborde este aspecto. En esta revisión se exploran algunas de ellas, además de ponerlas en el contexto de lo que son los MERs y de las normativas europeas y nacionales. Se concluye que aunque pudiera haber proteína prion en la leche, la concentración debe ser muy baja y no hay ningún estudio que demuestre inequívocamente que este prión sea infeccioso.

Ana María Soto Carrión, Esperanza Gómez-Lucía • Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. U.C.M.



¿Qué son las EETs?

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) son un grupo de enfermedades que causan una degeneración del sistema nervioso central (SNC) de los individuos, dando lugar a cuadros de tipo nervioso. La etiología de este grupo de enfermedades, en la mayoría de los casos, es controvertida, aunque muchos autores consideran que están producidas por una proteína infecciosa, idéntica en estructura primaria o secuencia aminoacídica a otra celular (PrP^c), pero diferente en su estructura terciaria o espacial. La transmisión puede ser tanto horizontal como vertical y, en algunos, casos existen factores genéticos implicados. Afectan a un amplio abanico de especies animales. Las principales EETs se muestran en la **Tabla 1**.

Estas enfermedades se caracterizan porque su período de incubación es muy largo. La proteína prion normal está presente en los mamíferos. Tras la ingestión de alimentos contaminados con PrP^{Sc}, el prion patógeno transforma la proteína normal, modificando su estructura terciaria y volviéndolo patógeno, causando así una degeneración amiloide.

¿Qué es la enfermedad de las vacas locas?

Es el nombre común de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB, BSE en su abreviatura inglesa). Esta enfermedad afecta al ganado bovino, causando una degeneración del sistema nervioso del animal, con un período de incubación muy prolongado, próximo a los cinco años.

Esta EET surgió en Inglaterra en la década de los ochenta, y actualmente está distribuida por todo el mundo. Debido a la elevada incidencia que alcanzó la EEB, fueron necesarias una serie de medidas drásticas con intención de erradicar dicha enfermedad. Según la hipótesis más boga, la enfermedad surgió en la década de los 80, tras una crisis energética por la que se rebajó la temperatura de tratamiento para obtener harinas de origen animal, impidiendo alcanzar la temperatura adecuada, permitiendo la persistencia de las proteínas priones en los productos alimenticios. Dichos productos, presentes en las harinas de origen animal, parece que fueron los causantes de la transmisión de esta, hasta entonces, desconocida enfermedad, al ser ingeridos por vacas (Capobianco *et al.*, 2007). Para restringir la difusión de las EETs se tomaron una serie de medidas que siguen manteniéndose en la actualidad. Se basan en los siguientes aspectos:

- sacrificio y destrucción de animales enfermos.
- comunicación de la enfermedad a las autoridades sanitarias.
- prohibición de las harinas de rumiantes en alimentos animales.

¿Qué es la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob?

Dentro del grupo de las encefalopatías espongiformes, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) afecta a los seres humanos, con una sintomatología similar a los demás miembros del grupo. Se ha demostrado que las personas que han ingerido alimentos de origen vacuno que poseían proteína prion patógena presentan una ECJ atípica,

Tabla 1
Principales EETs

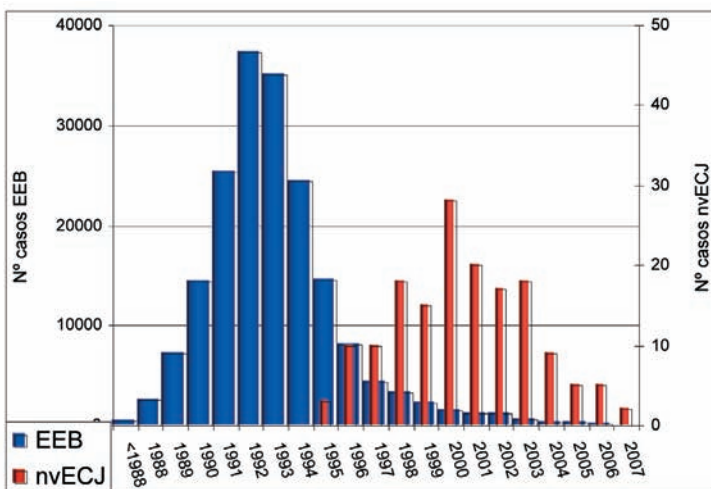
Nombre de la enfermedad	Hospedador natural	Proteína prion	Abreviatura
Scrapie	Oveja y cabra	Scrapie	PrP ^{Sc}
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Ser humano	Prion CJ	PrP ^{CJD}
Encefalopatía espongiforme bovina	Bóvidos	Prion BSE	BovPrP ^{Sc} o PrP ^{BSE}
Encefalopatía espongiforme felina	Felinos	Prion FSE	FePrP ^{Sc}

Tabla 2
Sintomatología de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

✓ demencia
✓ ataxia
✓ rigidez muscular
✓ dolor de cabeza
✓ cansancio, sueño e inapetencia
✓ cambios de conducta
✓ falta de coordinación muscular e insensibilidad táctil

Gráfico 1

Evolución de los casos de encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en el Reino Unido, y de la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob en el mundo (nvECJ). Obsérvese que el máximo número de casos en un año ha sido de 37280 para la EEB (1992), y de 28 para la nvECJ (2000), así como el perfil similar de ambas curvas.



por lo que se ha dado en denominar “nueva variante de la ECJ” (nvECJ), con un curso algo más lento que la ECJ, y que afecta a personas mucho más jóvenes (media de 30 años en vez de 65 años). La sintomatología que acompaña a esta enfermedad neurodegenerativa se muestra en la **Tabla 2**. Las encefalopatías espongiformes transmisibles no se transmiten fácilmente a otras especies gracias a la barrera natural existente, que exige que las proteínas patógenas tengan que adaptarse al nuevo hospedador. Así pues, la transmisión entre seres humanos y vacas se ve dificultada por la eficaz barrera biológica que existe entre ambos grupos; por ello, las personas que padecen nvECJ, infectadas a partir de “vacas locas”, presentan una enfermedad diferente de la EEB y de la ECJ. Además, como se aprecia en el **Gráfico 1**, no tantas personas han adquirido la nvECJ como se esperaba en un principio, puesto que incluso en el año 2001, pico de la enfermedad, ni siquiera hubo

30 personas diagnosticadas. El pico correspondiente a la EEB tuvo lugar en el año 1992, de lo que se deduce que la incubación en el hombre es de alrededor de 8-10 años. Finalmente, también se observa que ambas curvas, de EEB y de nvECJ, tienen un perfil similar, y que en ambos casos nos encontramos en la fase descendente de los procesos, por lo que se debe moderar la alarma que se transmite.

La ECJ también puede tener otros orígenes:

- En la tribu Kurú de Nueva Guinea por prácticas de canibalismo ritual, la proteína alterada se transmitía de unas personas a otras.
- De origen iatrogénico, al utilizar material infectado por priones de pacientes anteriores, o el uso de hormona de crecimiento humana (SCENIHR, 2006)¹.
- Esporádica debida a una mutación somática de tipo familiar.

Las lesiones se aprecian en el SNC y su diagnóstico presuntivo se puede rea-

lizar a través de un encefalograma, análisis de líquido cefalorraquídeo y resonancia magnética, aunque también existen métodos rápidos. El diagnóstico definitivo es post-mortem.

MERs

Se ha visto que el ganado afectado por la EEB presenta proteína prion anormal en intestino y en tonsilas, junto con el tejido nervioso, tal como el cerebro y la médula espinal. Esto ha propiciado que se hiciera una clasificación de los productos de origen bovino conforme a su infecciosidad. Los materiales especificados de riesgo o MERs son aquellos donde se ha detectado proteína prion en vacas y ovejas infectadas, y por tanto, tienen más probabilidad de que la PrP patógena alcance mayores concentraciones aunque no se realice un diagnóstico de EET. Una de las medidas de prevención que

¹ http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_004b.pdf: Scientific Committee on emerging and newly identified health risks (SCENIHR). Opinion on the safety of human-derived products with regard to variant Creutzfeldt-Jakob Disease (2006).

se aplica para los consumidores consiste en retirar del mercado los tejidos nerviosos y linfoides que, en teoría, pueden presentar el agente patógeno. Estos productos se les conocen con las siglas MER.

Por las graves repercusiones de la enfermedad, la UE dictó la Decisión del 2000/418 (UE, 2000)² en la que se propone una lista de MER para ser considerada por los distintos países:

- la decisión 96/239, mediante la cual prohíbe la exportación del Reino Unido de vacas vivas, carne de vacuno.
- la decisión 97/534, en la que se enuncia la definición de MER, incluyendo, como materiales especificados de riesgo, el cráneo, los ojos, encéfalos, amígdalas y médula espinal en bovino mayor de 12 meses. En caprino y ovino, además de los descritos anteriormente, también lo es el bazo.

Todos estos MER se deben destruir utilizando un tratamiento térmico que conlleve la incineración de los mismos. A efectos prácticos, en algunos países europeos los intestinos procedentes de bovinos de más de 24 meses se tiñen de azul para poder identificarlos fácilmente y que no se mezclen con los de otros animales.

En España, la actual legislación (R.D. 221/2001 de 2 de marzo; R.D. 1911/2000 de 24 de Noviembre)³ incluye los MER en función de:

- En bovino mayor de 12 meses:
 - cráneo con ojos y encéfalo.
 - amígdalas.
 - médula espinal.
- Bovino de cualquier edad: intestino del duodeno al recto.
- Ovino y caprino mayor de 12 meses:
 - cráneo (ojos y encéfalo).
 - amígdalas y médula espinal.
- Ovino y caprino de cualquier edad: bazo.

Proteína Prion en la leche

Existen numerosos estudios que muestran que la transmisión de los priones se realiza a través de la ingestión de productos contaminados con la proteína patógena, que como se mencionó anteriormente, alcanza una mayor concentración en los productos considerados MER. Dentro de la lista de dichos alimentos no se encuentra la leche ni el músculo. Sin embargo, en revistas de divulgación científica poco contrastadas, se ha publicado que existen en los comercios tetrabricks de leche homogeneizada y pasteurizada que contienen la proteína prion patógena.

En controversia con respecto a lo anterior, se han publicado distintos estudios científicos indicando que la EEB no se transmite a través de la leche de vaca, aunque ésta proceda de vacas enfermas con encefalopatía espongiiforme. Sin embargo, tras la aparición de ca-



sos de personas con nvECJ, las medidas cautelares tomadas prohibieron la venta de los productos o materias primas procedentes de animales infectados con dicho agente. A pesar de la inquietud general sobre la posible infecciosidad de la leche, hay pocos estudios sobre la relevancia de la leche en la transmisión de las EETs. Casi todos ellos concluyen que la leche en general presenta un nivel de riesgo despreciable en este sentido. A continuación se detallan algunos de los trabajos realizados.

a) Presencia de proteína prion en la leche

Varios científicos han alertado desde el comienzo de la epidemia, que la leche, el calostro y los tejidos mamaros (sobre todo de los ovinos), podrían representar un peligro por poseer proteína prion. Basan su convencimiento en que la leche es un fluido orgánico rico en leucocitos, células que se ha visto que vehiculan PrP. Sin embargo, el número de leucocitos, aun asumiendo que estuvieran infectados, se eleva principalmente en dos circunstancias:

• El calostro:

Debido a su papel en la defensa, el calostro de los animales domésticos, es una mezcla súper concentrada de linfocitos y de anticuerpos, destinados a proteger al recién nacido de las infecciones externas. Este carácter disminuye enormemente a las 24 h tras el parto y la leche en sí está mucho menos cargada de estos materiales inmunológicos. Es importante señalar, por otra parte, que la concentración de proteína se mantiene básicamente similar en la leche y en el calostro. Aún

² http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2000/l_158/l_15820000630es00760082.pdf: Decisión de la Comisión de 29 de junio de 2000 por la que se reglamenta el uso de los materiales de riesgo en relación con las encefalopatías espongiiformes transmisibles y se modifica la Decisión 94/474/CE

³ <http://www.eeb.es/pags/dispmsc.pdf>: Disposiciones del Ministerio de Sanidad y Consumo relativas a la EEB (2001) Administración General del Estado.



así y todo, el énfasis en transmisión se debería enfocar fundamentalmente en las posibilidades del calostro como fuente de contagio.

• **En mamitis:**

Las mamitis, como todos los procesos inflamatorios, suponen un reclutamiento de células de la inmunidad innata y adquirida hacia el foco de inflamación. En estas circunstancias, los recuentos de células somáticas en la leche están aumentados, y es lo que define a la mamitis o mastitis. Por tanto, la leche mamítica presenta un número más elevado de leucocitos y su ingestión podría suponer un peligro. Por otra parte, la leche mamítica puede ser vehículo de múltiples agentes patógenos y debería ser siempre retirada del consumo (humano y animal)⁴. Por lo que se ha podido

demostrar, la presencia de PrP^c es mucho mayor en un animal con mastitis que en uno sano, y existe la hipótesis que en un animal con EET y con mamitis pueda transmitir a través de la leche la PrP^{Sc} (von Bubnoff, 2005). En estos animales, los priones llegarían a la leche vehiculados por la sangre. Las observaciones del equipo de Aguzzi apuntan al mismo sentido, ya que han demostrado que el tejido de ubre inflamado en ovejas enfermas con scrapie contiene priones infecciosos (Ligios *et al.*, 2005). Estos investigadores analizaron 261 ovejas susceptibles genéticamente en Cerdeña y encontraron que siete padecían scrapie, de las que cuatro tenían una infección concomitante en las ubres, siempre por el retrovirus de la enfermedad de Maedi-Visna (MVV). Precisamente en estos cuatro hubo presencia de PrP^{Sc} en la glándula mamaria, mientras que los otros tres no. Concluyen que parece haber una asociación clara entre mastitis por MVV-facilitación de la presencia de priones patógenos en ovejas con scrapie, o, más ampliamente, que la coexistencia de la infección por priones y la inflamación en los órganos secretores puede conducir a la contaminación con priones del material secretado.

La Unión Europea, como medida cautelar, considera que incluso en la ausencia de mastitis la barrera sangre-leche puede no ser 100% eficaz, por lo que se recomienda no utilizar la leche o productos lácteos de animales infectados con EET. Probablemente, esto también sea sustentado por datos recientes que parecen indicar que en la glándula mamaria, el PrP^c se localiza selectivamente en células epiteliales de la mama y se expresa fundamentalmente por las células que producen secreción activa (Didier *et al.*, 2006). Se ha observado en estudios recientes, que la concentración de PrP^c que existe en leche, por ejemplo, de ove-

jas se expresa como microgramos en un litro, frente al rango en el que se expresa en mujeres, el cual es de nanogramos por litro. En cualquier caso, es una concentración miles de veces inferior a la que se encuentra en el cerebro.

Recientemente un laboratorio suizo, dedicado al desarrollo de técnicas de detección de priones, ha constatado la presencia de prion en leche procedente de las estanterías de los supermercados. Sin embargo, se trata de la proteína fisiológica, no de la mutada. Aún así y todo, el equipo investigador sugiere que su mera existencia podría significar que la leche de las vacas infectadas con el mal de las vacas locas podría contener priones de la variedad que causa la enfermedad (Franscini *et al.*, 2006). Otro laboratorio independiente ha llegado a conclusiones similares (Maddison *et al.*, 2006) y se plantea la pregunta alarmista de si esta PrP^c podría transformarse en PrP^{Sc}. Sus resultados no apoyan esta posibilidad, entre otras cosas, porque la proteína prion que han hallado no es exactamente idéntica a la que se detecta en otras partes del organismo.



La UE, al igual que la Agencia Americana de Seguridad Alimentaria (Food and Drug Administration), concluye que la leche bovina de vacas sanas y los productos derivados de la misma que no contengan ningún tipo de aditivo animal pueden ser consumidos sin riesgo alguno por cualquier especie animal. El Comité Científico Vete-

La UE considera que incluso en la ausencia de mastitis, la barrera sangre-leche puede no ser 100% eficaz, por lo que recomienda no utilizar la leche o productos lácteos de animales infectados con EET

⁴ http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_documents/709_en.html: Statement of the EFSA Scientific Expert Working Group on BSE/TSE of the BIOHAZ Panel on the health risks of the consumption of milk and milk derived products from goats (2006).



rinario considera que el riesgo derivado del consumo de leche de estos animales es despreciable⁵. Esta confianza se ha revalidado recientemente (Tyshenko, 2007), y además se extiende a otras especies.

- Por ejemplo, en las cabras se concluye que a la luz de los conocimientos actuales, la leche de cabra y los productos lácteos de los animales sanos, independientemente de su origen geográfico, no presentan riesgo de contaminación con EET. Al igual que en otras especies, los expertos recomiendan no utilizar la leche de animales con mamitis, para garantizar que no se adquiera ninguna infección potencial, incluyendo EETs⁶.

- La situación es similar en ganado bovino, en el que se han realizado experimentos administrando por vía oral cerebro infectado con EEB a terneras de 4-6 meses de edad. Un grupo recibió 100 g, otro 1 g y un tercer grupo se mantuvo como control no expuesto. Las vacas se inseminaron artificialmente cuando tenían dos años y cada año subsecuente. Cuando parieron se analizó su calostro y leche, separando la fracción láctea rica en células somáticas. En ninguna de las lactaciones analizadas se pudo detectar proteína prion patógena en la fracción de células de la leche mediante ELISA (Everest *et al.*, 2006).

b) Transmisión dentro de la misma especie

Los estudios sobre la seguridad de la leche de vaca en lo que respecta a la transmisión de priones se han cuestionado porque estos experimentos se han realizado con ratones, en los que la proteína prion ha de saltar la barrera inter-especie de la vaca al ratón. Sin embargo, dentro de individuos de la misma especie tampoco se ha podido confirmar de forma inequívoca la posible

transmisión de prion por esta ruta. Los estudios epidemiológicos realizados en la especie bovina han demostrado que los terneros nacidos de madres infectadas por EEB no presentan una incidencia significativamente superior de la enfermedad que los nacidos de madres no infectadas. El porcentaje del 5-15% superior en terneros de vacas infectadas se considera que pudieron adquirir la infección por rutas de contagio diferentes a la leche. Hasta la fecha no se ha podido demostrar experimentalmente la transmisión madre-hijo en ninguna especie

estudiada (incluyendo los primates)⁷.

La transmisión tampoco se debe haber realizado por vía natural, puesto que en la epidemia de kuru tampoco parecía probable que se produjera transmisión vertical. De hecho, hay varios casos de mujeres con ECJ que dieron a luz (posiblemente por cesárea) niños que permanecen sanos, alguno de ellos incluso a los 30 años de haber nacido⁸.

c) Transmisión a otras especies: ratones

- En 1992 se publicó el caso de una mujer japonesa embarazada y afectada por ECJ esporádica. Cuando se inoculó su calostro intracranalmente a ratones BALB/c se observó que 2 de 10 desarrollaron cambios histológicos espongiiformes en el córtex y en la materia blanca del cerebro y cerebelo, así como astrogliosis a los 611 días. Cuando se inoculó el cerebro de estos dos ratones a otra tanda de congéneres, 5 de 10 padecieron el proceso, desarrollándolo a los 202 días, pero en esta ocasión no fue atribuido a la transmisión por calostro. En el tercer pase, 21 de 21 ratones desarrollaron EET a los 131 días post inoculación, señal de que el prion se había adaptado plenamente al ratón (Figura 1) (Tamai *et al.*, 1992).

- Sin embargo, esta parece ser la única evidencia sobre la infectividad del calostro, porque la Unión Europea señala la dificultad en demostrar la presencia de prion patógeno mediante el bioensayo en ratones, a los que se les inocula intracranalmente leche o calostro de personas con kuru o ECJ o bóvidos u óvidos con EETs.

- En experimentos con ratones transgénicos que expresan la proteína PrP bovina experimentalmente infectados por administración intracerebral de priones

⁵ http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out175_en.html: Safety of milk with regard to TSE: State of affairs.

⁶ http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_documents/709_en.html: Statement of the EFSA Scientific Expert Working Group on BSE/TSE of the BIOHAZ Panel on the health risks of the consumption of milk and milk derived products from goats (2006).

⁷ http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out175_en.html: Safety of milk with regard to TSE: State of affairs.

⁸ Ídem.

Figura 1

Experimento para comprobar la infecciosidad del calostro de una mujer con nvECJ. El calostro fue administrado intracerebralmente (I/C) a ratones BALB/c (primer pase), y de los que estaban enfermos y presentaron cambios espongiiformes en el cerebro y cerebelo y astrogliosis se inoculó su cerebro a otros ratones BALB/c (segundo pase), repitiendo el proceso hasta un tercer pase. Debajo de cada experimento se indica el número de animales que mostraron sintomatología del total que había sido inoculado, y el número de días que tardaron los síntomas en desarrollarse (adaptado de Tamai *et al.*, 1992).

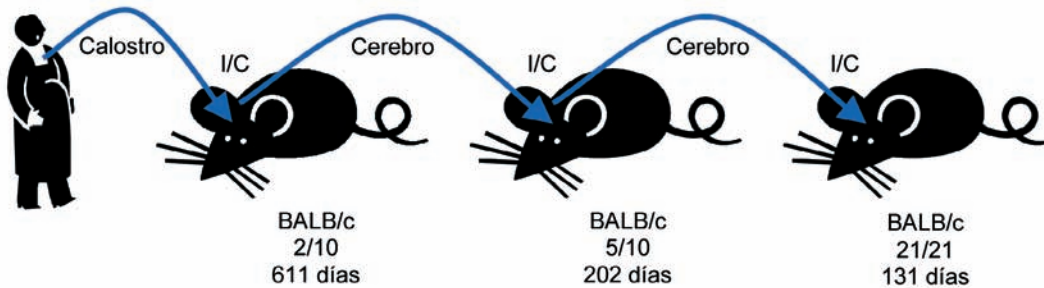


Tabla 3

Conclusiones sobre la posible presencia de proteína príon en la leche

Parece evidente que en la leche puede haber proteína príon
La concentración es tan baja que no se había detectado hasta recientemente
Existe más posibilidad de que se presente en leche procedente de animales caméricos
Aunque ningún experimento ha demostrado inequívocamente la infecciosidad de la leche o el calostro, como medida cautelar se debería despreciar la leche de animales con EETs.

EEB no se pudo detectar príon patógeno en la leche, aunque sí que ocurrió transmisión a recién nacidos por otras vías (Castilla *et al.*, 2005).

Conclusión

Como medida cautelar se debe despreciar la leche de vacas y ovejas infectadas con EET, aunque, según la UE, la leche no se ha demostrado que sea infectiva. En cualquier caso, a la vista de los resultados epidemiológicos y de las curvas de incidencia de la EEB y de la nvECJ, se puede decir que ambas enfermedades están en fase descendente. La nvECJ no ha alcanzado las proporciones que los pronósticos parecían presagiar, por lo que la transmisión a partir del consumo de vacas locas debe ser más difícil de lo esperado. Por este motivo, aunque se haya detectado proteína príon en la leche, aunque hubiera la variedad patógena, su concentración debe ser mínima y no suficiente para producir enfermedad en el hombre (Tabla 3).

Bibliografía

Capobianco C, Suardi S, Mangieri M, Miccolo C, Limido L, Catania M Rossi G, Di Fed G, Giaccone G, Bruzzone MG, Mlnati L, Corona C, Acutis P, Gelmetti D, Lombarda G, Groschup MH, Buschmann A, Zanusso G, Monaco S, Caramelli M, Tagliavini F (2007) Conversión of the BASE prion strain into the BSE strain:

the origin of BSE? PLoS Pathogens Vol. 3, No. 3, e31 doi:10.1371/journal.ppat.003003.
 Didier A, Dietrich R, Steffl M, Gareis M, Groschup MH, Muller-Hellwig S, Martbauer E, Amselgruber WM (2006) Cellular prion protein in the mammary gland is selectively expressed in active lactocytes. J Histochem Cytochem, 54:1255-1261.
 Everest SJ, Thorne LT, Hawthorn JA, Jenkns R, Hammersley C, Ramsey AM, Hawkins SA, Venables L, Flinyy L, Sayers R, Kilpatrick J, Sach A, Hope J, Jackman R (2006) No abnormal prion protein detected in the milk of cattle infected with the bovine spongiform encephalopathy agent. J Gen Virol, 87:2433-2441.
 Francini N, Gedaily AE, Matthey U, Franitza S, Sy M-S, Bürkle A, Groschup M, Braun U, Zahn R (2006) Prion protein in milk. PLoS One 1(1):e71. doi:10.1371/journal.pone.
<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/bsefaq.html>: Commonly asked questions about BSE in products regulated by FDA's Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) (2005)
http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_documents/787.html: Statement of assessment of safety with respect to the consumption of goat meat and goat meat products in relation to BSE/TSE (2006)
 Leblanc P, Alais S, Porto-Carreiro I, Lehmann S, Grassi J, Raposo G, Darlix JL (2006) Retrovirus infection strongly enhances scrapie infectivity release in cell culture. EMBO J, 25: 2674-2685.
 Ligios C, Sigurdson CJ, Santucci C, Carcassola G, Manco G, Basagni M, Maestrone C, Cancedda MG, Madau L, Aguzzi A (2005) PrPSc in mammary glands of sheep affected by scrapie and mastitis. Nature Medicine 11: 1137-1138.
 Maddison BC, Whitlam GC, Gough KC (2007) Cellular prion protein in ovine milk. Biochem Biophys Res Commun, 353: 195-199.
 Tamai Y, Kojima H, Kitajima R, Taguchi F, Ahtani Y, Kawagichi T, Miura S, Sato M (1992) Demonstration of the transmissible agent in tissue from a pregnant woman with Creutzfeldt-Jakob disease. The N England J Med, 327: 649.
 Tyshenko MG (2007) Bovine spongiform encephalopathy and the safety of milk from Canadian dairy cattle. Vet Rec, 160:215-218.
 von Bubnoff A (2005) Prions suspected in milk. Sheep mammary glands shown to contain agents of fatal brain disease. Nature Online. Doi: 10.1038/news051031-7.