



UNIVERSIDAD DEL PAPALOPAN

Campus Loma Bonita

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

**DESARROLLO Y EVALUACION DE UNA AUTOVACUNA COMO
TRATAMIENTO CONTRA LA PAPILOMATOSIS BOVINA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN ZOOTECNIA**

PRESENTA:

JAIME SÁNCHEZ CADEZA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ ABAD ZAVALA

LOMA BONITA OAXACA, MÉXICO.

2024



Universidad del Papaloapan

FECHA:	12 de Febrero del 2024
ÁREA:	Vice-Rectoría Académica
OFICIO NÚMERO:	UNPA/VRA/040/2024
ASUNTO:	Autorización de Impresión de tesis.

C. JAIME SÁNCHEZ CADEZA.
P R E S E N T E:

En base al artículo 120 del reglamento de alumnos, por medio de la presente se aprueba la impresión de la tesis titulada **“Desarrollo y evaluación de una autovacuna como tratamiento contra la papilomatosis bovina”** así como la programación del examen profesional bajo la dirección del Dr. José Abad Zavaleta.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente.
terra ubérrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi jí jú

MC. HÉCTOR LÓPEZ ARJONA
Vice-Rector Académico.



C.c.p. Dra. Gladis Morales Terán.- Jefa de Carrera de la Lic. En Zootecnia
C.c.p. L.P. Yesenia Barrientos Arenal.- Jefa del Departamento de Servicios Escolares
C.c.p. Dr. José Abad Zavaleta.- Director de Tesis.
C.c.p. Archivo.



Universidad del Papaloapan

Terra Liberrima, Alma Mater

Licenciatura en Zootecnia

Oficio número JCLZ/06/2024

Asunto: Asignación de sinodales de examen profesional

Loma Bonita, Oaxaca a 09 de febrero del 2024

M.E. Yesenia Barrientos Arenal
Jefa del Departamento de Servicios Escolares
PRESENTE

Mediante la presente, le informo que esta jefatura, con el visto bueno de la Vice-rectoría Académica, ha designado a los siguientes profesores como sinodales del examen profesional del egresado **C. Jaime Sánchez Cadeza**, quien defenderá su trabajo de tesis titulado **"Desarrollo y evaluación de una autovacuna como tratamiento contra la papilomatosis bovina"**, para obtener el título de **Licenciado en Zootecnia**.

Titulares:

Presidente: Dr. Wilber Hernández Montiel
Secretario: Dra. Amada Isabel Osorio Terán
Vocal: Dr. José Abad Zavaleta

Suplentes:

Dr. Nicolás Valenzuela Jiménez
M.C. Julián Cotera Rivera

Sin más por el momento, le envié un cordial saludo.



Dra. Gladis Morales Terán
Jefa de Carrera de Lic. en Zootecnia

Atentamente

Vo. Bo.

M.C. Héctor López Arjona
Vice Rector Académico



C.c.p.: M.C. Héctor López Arjona. Vice Rector Académico. Para su conocimiento
C.C.p: Archivo

DEDICATORIA

Primero agradecer a Dios por prestarme vida para poder lograr este objetivo.

A mi mamá Rossana y papá Jaime por su apoyo incondicional, su motivación y su confianza puesta en mí.

Mi hermana Valeria por siempre estar conmigo.

Mi prima Rosa Elosia, y Uriel por su gran apoyo durante toda la universidad, mi tía Ludy que me trata como otro hijo más.

A mi asesor de tesis el Doctor José Abad por su apoyo.

A todos los que creían que podría terminar la universidad y también a todos los que no lo creían.

A todos mis maestros por sus cátedras.

A mis amigos que me rodearon en la universidad.

A mí por poder estudiar a los animales.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater, la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita, por aceptarme y darme la carrera que siempre quise.

A la Dra. Tania Zúñiga Marroquín por su apoyo y por sus buenos consejos durante mis estudios.

Al M.C. Carlos Iván Medel por sus buenos consejos cuando me desviaba del camino.

A los doctores, Nicolas Valenzuela, Ubaldo Aguilar, Wilbert Hernández, José Manuel Juárez, Miguel Ángel, la M.C. Hazaribagh. Las doctoras, Gladis Morales, Ma. Teresa Kido por todas sus enseñanzas dentro del aula de clases.

A mi grupo de los 5 años, en especial a mis 2 amigos, José Mora y Erick Tadeo con quienes siempre existió la competencia sana y el apoyo incondicional académicamente.

A mi familia gracias por todo.

A mi asesor el Dr. José Abad Zavaleta por su apoyo para llevar a cabo este proyecto, por confiar en mí, y por su amistad.

CONTENIDO

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	ix
ABREVIATURAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. HIPÓTESIS.....	4
4. MARCO TEÓRICO	5
4.1 Papilomatosis bovina.....	5
4.2 Virus del Papiloma Bovino	5
4.3. BPV y Papilomatosis Bovina.....	6
4.4 Tipos de BPV	9
4.5 Métodos de Diagnóstico.....	9
4.6 Vía de Infección del BPV	10
4.7 Patogenia.....	11
4.8 Factores que predisponen al bovino	11
4.9 Situación del BPV en el Mundo.....	11
4.10 Situación del BPV en México.....	12
4.11 Susceptibilidad de Razas a la Papilomatosis.....	13
4.12 Lesiones macroscópicas, características patológicas y clínicas.....	13
4.13 Impacto económico.....	14
4.14 Riesgo a la salud pública	15
4.15 Métodos de Control.....	15
4.15.1. Métodos Químicos	16

4.15.1.1	Uso de cobre y calcio	16
4.15.1.2	Clorobutanol/Verrugal	17
4.15.1.3	Vitamina ADE	17
4.15.1.4	Levamisol fosfato	17
4.15.2.	Método Físico	18
4.15.2.1	Arete de cobre	18
4.15.2.2	Quirúrgico	19
4.15.3.	Métodos biológicos	19
4.15.3.1	Vacuna atenuada del virus BPV newcastle la cepa sota	19
4.15.3.2	Autohemoterapia	19
4.15.3.3	Autovacuna	19
4.15.3.4	Sueroterapia	21
4.15.3.5	Thuja	21
4.15.3.6	Higo	21
4.15.3.7	Vacunas profilacticas y terapeuticas	22
4.16	Vacuna.....	22
4.17	Adyuvantes	23
4.18	Inactivadores.....	23
4.19	Excipientes.....	24
4.20	Prevención	24
5.	MATERIALES Y METODOS.....	25
5.1	Área de estudio.....	25
5.2.	Selección de animales infectados.....	26
5.3.	Recolección de Muestras.....	27
5.4.	Inactivación de los Virus	28
5.5.	Formulación y desarrollo de la vacuna.....	29
5.6.	Evaluación de la vacuna	31
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	34
6.1	Papiloma encontrados	34
6.2	Efectividad de los tratamientos	41

6.3 Costo-beneficio del tratamiento	43
7. CONCLUSIONES	45
8. LITERATURA CITADA	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de los papilomas encontrados en los diferentes ranchos en la región de la Cuenca del Papaloapan, adaptado de Monteiro <i>et al.</i> , 2008. ...	35
Cuadro 2: Distribución los papilomas según las características que presentan en el ganado según su ubicación, tamaño e invasión.....	39
Cuadro 3: Total de animales en el experimento.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Centro de Investigaciones Científicas.....	26
Figura 2. Recolección de muestra de papiloma.....	28
Figura 3. Papiloma después de lavarlo.....	29
Figura 4. Papiloma después de ser triturado.....	29
Figura 6. Muestra centrifugada.....	31
Figura 6. Separación del sólido del líquido.....	30
Figura 7. Vacuna lista para refrigerarse.....	31
Figura 8. Aplicación de la vacuna.....	32
Figura 9. Papiloma en el cuello.....	34
Figura 10. Papiloma alrededor de los ojos.....	34
Figura 11. BPV en testículos.....	35
Figura 12. Papiloma en forma de grano de arroz.....	38
Figura 13. Papiloma en forma de coliflor.....	38
Figura 14. Papiloma en forma pedunculada.....	38
Figura 15. Becerra día 30 pos vacuna, dos aplicaciones.....	44
Figura 16. Becerra día 0 de aplicación.....	43
Figura 17. Becerro en día 0.....	44
Figura 18. Becerro 90 días pos vacunación.....	44

TABLA DE ABREVIATURAS

BPV	Virus del papiloma bovino
BP	Papilomatosis bovina
HPV	Virus del papiloma humano
PV	Virus del papiloma
IHC	Inmunihistoquímica
PCR	Reacción de la cadena de la polimerasa
RCA	Amplificación de círculo rodante
RPM	Revoluciones por minuto
UP	Unidad de producción

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna contra el virus del papiloma bovino, hecha del mismo tejido del papiloma en el bovino. Se utilizaron 485 animales, seccionados en 3 tratamientos de acuerdo con su grado de infección, animales con una nula infección se les aplicó un tratamiento preventivo (T1), ya que tenían una convivencia diaria con animales infectados, el T2 consta de animales con un grado de infección severo y se les aplicó hasta dos dosis de vacuna, el T3 se conformó por animales con un grado de infección muy alto, los cuales se les aplicó hasta 4 dosis de vacuna. Los datos fueron recolectados durante el tiempo que se aplicó la vacunación y días posteriores para observar su evolución y respuesta a los tratamientos, los datos se analizaron mediante una chi-cuadrado con el software SAS. De acuerdo con los resultados el T1 de prevención no se presentaron problemas o alteraciones en los animales, el T2 se trataron 158 animales los cuales el 81.64 % presentó una ausencia del papiloma, en el T3 constaba de 51 animales, los cuales el 54.90 % presentó una ausencia del papiloma. Estos resultados fueron afectados por diversos factores negativos tanto como positivos en la respuesta inmunitaria, como lo son la condición corporal, la alimentación y el manejo que se le da a cada hato de ganado. La vacuna elaborada del mismo tejido de papiloma resulta como un tratamiento alternativo eficaz para tratar animales infectados.

Palabras claves: vacuna, papiloma, tejido, eficacia.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effectiveness of a vaccine against bovine papillomavirus, made from the same papilloma tissue in cattle. 485 animals were used, divided into 3 treatments according to their degree of infection. Animals with no infection received a preventive treatment (T1), since they had daily coexistence with infected animals. T2 consists of animals with a degree of infection of severe infection and up to two doses of vaccine were applied, T3 was made up of animals with a very high degree of infection, which were applied up to 4 doses of vaccine. The data were collected during the time the vaccination was applied and subsequent days to observe its evolution and response to the treatments. The data were analyzed using a chi-square test with the SAS software. According to the results, in T1 of prevention there were no problems or alterations in the animals, in T2 158 animals were treated, of which 81.64% presented an absence of papilloma, in T3 it consisted of 51 animals, of which 54.90% presented an absence of papilloma. These results were affected by various negative as well as positive factors in the immune response, such as body condition, feeding and the management given to each herd of cattle. The vaccine made from the same papilloma tissue is an effective alternative treatment for treating infected animals.

Keywords: vaccine, papilloma, tissue, effic

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería es una de las principales actividades en México, en el cierre del 2022, se proyecta que la producción de carne llegue a 2 millones 077 mil toneladas, y que el consumo sea de 1 millón 874 mil toneladas. (SIAP, 2022). Sin embargo, existen diferentes enfermedades que afectan al ganado bovino, una de ellas es el virus del papiloma bovino (BPV), causante de la papilomatosis bovina (BP) (Rojas *et al.*, 2016).

La BP, es una enfermedad infectocontagiosa viral, crónica, de carácter tumoral benigno y de naturaleza fibroepitelial, reconocida por la formación de tumores (papilomas o verrugas) (Rodríguez *et al.*, 2015). El BPV pertenece a la familia *papillomaviridae*, del género *papillomavirus*, el cual se caracteriza por una alta diversidad viral (Torres *et al.*, 2016), hasta la fecha se conocen 26 genotipos de BPV nombrado desde BPV-1 a BPV-22 (Bauermann *et al.*, 2017), de los cuales los genotipos BPV-1 y BPV-2 son los de mayor prevalencia en todo el mundo y los de más amplia distribución (Vázquez *et al.*, 2012).

Los papilomas cutáneos son tumores proliferativos benignos, con patogénesis compleja (Börkú *et al.*, 2007). Las neoplasias comúnmente surgen en áreas vascularizadas a la atrición física (Özsoy *et al.*, 2011). Histológicamente, los papilomas se caracterizan por hiperplasia del epitelio, el cual se extiende por encima de la dermis (Monteiro *et al.*, 2008).

Los papilomas cutáneos, morfológicamente se clasifican en, (Monteiro *et al.*, 2008):

1. Masa exofítica-típica, con aspecto de `coliflor´ presentando una base de inserción amplia o estrecha.
2. Masa exofítica-pedunculada conectada por una base estrecha con forma de pedúnculo.
3. Masa exofítica densa y planas conectadas por completo con el tejido.
4. Masa exofítica-filamentosa con una superficie altamente queratinizada y una base delgada, presente en las glándulas mamarias.
5. Forma de arroz: papilomas pequeños con forma de arroz.

En México, la BP es responsable de grandes pérdidas económicas (Rojas *et al.*, 2016), puesto que la enfermedad ha sido relacionada con la ceguera de los animales, desarrollo retardado, desvaloración del cuero, caída de la fertilidad, dificultad locomotora y cuadro de mastitis, por lo tanto, genera la disminución de productividad (Franco *et al.*, 2007).

Se han desarrollado múltiples tratamientos para tratar la BP, pero las efectividades reportadas de estos han sido variables y muchos no han sido valorados experimentalmente (Valencia *et al.*, 2013). El principal obstáculo es la falta de una vacuna para combatir la enfermedad, debido a que es difícil de obtener un producto seguro y eficiente, puesto a que hay una pequeña cantidad de grupos de investigadores dedicados a desarrollar una vacuna contra la BPV (Araldi *et al.*, 2017), y no hay tratamientos específicos en el mercado nacional (Rojas *et al.*, 2016). Motivo por el cual, en este trabajo se evaluará una vacuna para prevenir o tratar la BP y disminuir las pérdidas económicas por esta enfermedad.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Desarrollar y evaluar una autovacuna con virus inactivados de BPV para tratar la papilomatosis bovina.

2.2. Objetivos específicos

- Recolectar el papiloma de los animales infectados.
- Elaborar una vacuna de virus inactivados del BPV.
- Evaluar la efectividad de la vacuna en los hatos bovinos afectados de la región del Papaloapan, Oaxaca.

3. HIPÓTESIS

El ganado de la región del Papaloapan infectado con papilomatosis bovina presentará una disminución significativa en su infección después del tratamiento con la vacuna a base de virus inactivados.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Papilomatosis bovina

La papilomatosis bovina es una enfermedad viral que se manifiesta en forma de verrugas sobre la piel del ganado, con mayor incidencia en la cabeza, cuello, tórax y pezones; origina molestias en las reses, impide la adecuada conversión de los alimentos, altera el equilibrio reproductivo y provoca una gran morbilidad. Además de que generar mal olor en los animales y un aspecto desagradable. (Bastista, 2002).

Se clasifican como tumores benignos, desprovistos de pelo, de curación espontánea, producidos por virus, que afecta a la piel y a veces a la córnea o la mucosa de los tractos genital o urinario (Mayilkumar *et al.*, 2014).

4.2. Virus del Papiloma Bovino

En 1986 se reportó por primera vez la descripción de seis diferentes tipos de BPV (BPV-1 a BPV-6), clasificados en dos subgrupos: el subgrupo A, que promueve los fibropapilomas, y el subgrupo B, que conduce a los papilomas epiteliales, el reporte también mostró que BPV-4, miembro del subgrupo B, era el agente etiológico de los papilomas del tracto digestivo superior, el cual podría convertirse en carcinomas en animal que se alientan de pasto específico con helechos (*Pteridium aquilinum*) (Campo y Jarret, 1986). Dos años más tarde (Walter-Moura *et al.*, 1998) verificaron el aumento de las aberraciones cromosómicas de células obtenidas a partir de linfocitos periféricos de bovinos afectados de hematuria enzoótica bovina (BHE), los pastos fueron expuestos con helechos. Los estudios realizados se reforzaron por

los informes, que demuestran que la carcinogénesis está asociada a la interacción entre BPV y carcinógenos presentes en los helechos, tales como quercetina y ptaquilósidos (Pennie y Campo, 1992).

El origen del virus aún es incierto (Bernard, 2010), estudios sobre PV apuntan que surgieron junto con los tetrápodos en el periodo carbonífero de la era paleozoica (hace 330 millones de años), lo que demuestra que es una familia de virus antigua (Cubie, 2013), los estudios fundamentados en filogenia molecular indican que estos virus se originaron en África, y a lo largo de los millones de años se distribuyó en los diferentes continentes (Bernard, 2010). Otros estudios señalan que los PV adquirieron potencial oncogénico después de que los humanos fueran infectados, esto indica que el BPV pudo haberse originado a partir de la transmisión del HPV a bovinos, como consecuencia de la domesticación (García-Vallvé *et al.*, 2005), lo que justifica la similitud entre estos dos virus, conviniendo a BPV un modelo útil para los estudios de HPV (Munday, 2014).

4.3. BPV y Papilomatosis Bovina

El VPB se transmiten por contacto directo o por contagio indirecto. La aparición de las verrugas o papilomatosis bovina tiene un período de incubación de 1 a 3 meses y es de rápida difusión en el ganado. Generalmente entra el virus a través de heridas en la piel. Entre los factores de riesgo se encuentran la desnutrición, inadecuada higiene, estrés y heridas. Aunque es un virus originado en bovinos puede ser transmitido hacia otras especies. Siendo en equinos la segunda especie más común siguiendo de los bovinos (Mattil-Fritz *et al.*, 2008). Puede haber infección en el organismo sin aun presentarse las verrugas, de manera asintomática, se ha

reportado evidencia de presencia del virus en líquido seminal, e incluso semen comercial proveniente de Brasil (Fava *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2016; Melo *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2011).

El BPV es un virus cosmopolita, distribuido por todo el mundo, independientemente del nivel de explotación del ganado (He *et al.*, 2014), la infección puede ser mayor cuando el virus se presenta de forma asintomática. Debido a la ausencia de estudios epidemiológicos sobre la distribución de BPV puede subestimar el porcentaje real de los animales infectados, lo que representa una dificultad notoria en el intento a desarrollar vacunas, debido a que se desconoce el tipo de virus prevalente en cada país (Silva *et al.*, 2014). La infección por BPV es endémica tanto en ganado lechero, como de carne, no obstante, BPV presenta una predilección por el ganado lechero (Araldi *et al.*, 2015). El virus es el agente causante de la BP (Muro *et al.*, 2008), y se conoce como una enfermedad infecciosa, neoplásica, contagiosa, caracterizada por la presencia de múltiples tumores benignos (papilomas), Sin embargo, en ocasiones los animales no son capaces de eliminar la infección, generando un riesgo a progresar en cáncer; solamente se conoce un cofactor que interactúa en los procesos carcinogénicos asociados a la infección del BPV, el cual es una planta de helechos *Pteridium* (Vázquez *et al.*, 2012). Las hojas del helecho contienen una alta cantidad del flavonoide quercetina y del norsesquiterpeno ptaquilósido, y que al ser consumidas por el ganado bovino actúan como agentes mutagénicos produciendo alquilaciones y rupturas en el DNA y reordenamientos cromosómicos (Campo, 1997). Los animales, al infectarse de estas sustancias teniendo la PB, desarrollan una nueva enfermedad conocida como Hematuria enzoótica bovina (HEB), misma que se ha reportado con mayor frecuencia en cáncer de la vejiga urinaria y del tracto

gastrointestinal superior relacionadas a la enfermedad. La HEB se caracteriza por la actividad de la sustancia carcinogénica que puede activar la transformación de las células bovinas con el virus y la transcripción viral de las oncoproteínas E5, E6 y E7 con el DNA del huésped (Vázquez *et al.*, 2012). Los subtipos BPV-1, BPV-2 y BPV-4 que expresan estos genes, están asociados con tumores malignos (Rojas *et al.*, 2016). La BP espontáneamente tiende a progresar neoplasias malignas (Bocaneti *et al.*, 2016). Preferiblemente afecta al ganado joven, aunque la enfermedad puede ocurrir en todas las edades (BörkÜ *et al.*, 2007). La persistencia de los papilomas ocasiona dificultades al respirar y al alimentarse, lo que requiere la eutanasia del animal (Campo, 2002), disminuye la tasa de crecimiento e induce la pérdida de peso, predispone infecciones por bacterias, principalmente en el pecho y glándulas mamarias, el cual puede causar matitis, dolor, reducir la producción de leche (Munday, 2014; Campo, 2002), y causar depreciación del valor del cuero (Monteiro *et al.*, 2008).

Los papilomas son visibles en la piel, la lengua, los pezones, el pene, la cavidad oral, el tracto digestivo superior y en la cabeza de los animales. Además, el virus se ha detectado en diferentes fluidos corporales como el semen, la orina, la sangre y la leche (Munday, 2014). La presencia del virus también se ha encontrado en la vejiga, la placenta y los linfocitos, que puede jugar un papel como reservorio viral (Resendes *et al.*, 2011).

Los papilomas cutáneos son tumores proliferativos benignos, con patogénesis compleja (BörkÜ *et al.*, 2007). Las neoplasias comúnmente surgen en áreas vascularizadas a la atrición física (Özsoy *et al.*, 2011). Histológicamente, los papilomas se caracterizan por hiperplasia del epitelio, el cual se extiende por encima

de la dermis (Monteiro *et al.*, 2008). Y de acuerdo con estos autores, morfológicamente se clasifican en:

- Masa exofítica-típica, con aspecto de ``coliflor`` presentando una base de inserción amplia o estrecha.
- Masa exofítica-pedunculada conectada por una base estrecha con forma de pedúnculo.
- Masa exofítica densa y planas conectadas por completo con el tejido.
- Masa exofítica-filamentosa con una superficie altamente queratinizada y una base delgada, presente en las glándulas mamarias.
- Forma de arroz: papilomas pequeños con forma de arroz.

4.4. Tipos de BPV

Actualmente, se describen 22 tipos de BPV (Bauermann *et al.*, 2017) y se clasifican en 5 géneros: *Deltapapillomavirus* (BPV-1, 2, 13, 14), *Epsilonpapillomavirus* (BPV-5, 8), *Xipapillomavirus* (BPV-3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 20 y 21), *Dyoxipapillomavirus* (BPV-7, 19) y *Dyokappapapillomavirus* (BPV-16, y 22) (Melo *et al.*, 2014; Bauermann *et al.*, 2017). *Delta* y *Epsilonpapillomavirus* están asociados con papilomas y fibropapilomas, mientras *Xipapillomavirus*, solo con papilomas escamosos (Araldi *et al.*, 2015).

4.5. Métodos de Diagnóstico

Se han desarrollado estudios sobre la diversidad y prevalencia del BPV para el mejoramiento de nuevos métodos terapéuticos (Silva *et al.*, 2013), ya que la

inmunidad es específica de esta especie (Claus *et al.*, 2007), por lo tanto, el diagnóstico es importante.

Existen diferentes métodos para identificar PV, tales como: *Southern blot* (Leto *et al.*, 2011), inmunohistoquímica (IHC) (Araldi *et al.*, 2015), hibridación cromogénica *in situ* (CISH) (Melo *et al.*, 2015), microscopía electrónica (Araldi *et al.*, 2014), amplificación de círculo rodante (RCA) (Silva *et al.*, 2016) y PCR utilizando primers específicos y/o degenerados (Stocco dos Santos *et al.*, 1998). Entre estas técnicas la PCR es la más utilizada debido a su alta sensibilidad (Leto *et al.*, 2011).

4.6. Vía de Infección del BPV

La transmisión de BPV puede generarse por contacto directo (animal-animal) o de forma indirecta por superficies contaminadas (Muro *et al.*, 2008), varios estudios muestran que el virus también puede ser transmitido por moscas (Finlay *et al.*, 2009) y garrapatas (Muro *et al.*, 2008), por bebederos, comederos, agujas y jeringas reutilizables e instalaciones contaminadas (Vázquez *et al.*, 2012) y por la mordedura de murciélagos.

El virus puede permanecer vivo en objetos inanimados como paredes o tubería de metal, infectando a los animales cuando éstos se frotan con ellos, también aparecen en los rasguños sufridos con las cercas de alambre (Radostits, 2002).

Los estudios de infección por PV se basan del prototipo BPV-1 (Florin *et al.*, 2012), la infección viral requiere una microlesión tisular, que expone los receptores del proteoglicano sulfato de heparina (Ljubojevic y Skerlev, 2014) necesarios para el anclaje de BPV L1 (Buck *et al.*, 2013). La microlesión es necesaria para que el virus

acceda a los queratinocitos basales (Liu y Baleja, 2008) donde comienza el ciclo del virus (Campo, 1997).

4.7. Patogenia

El virus infecta los queratinocitos basales y replica su genoma en los estratos granular y de diferenciación espinosa, haciendo que crezcan en forma exagerada, lo que es característico de la formación de la verruga. El tumor contiene tejido epitelial y conjuntivo y puede corresponder a un papiloma o fibropapiloma, según la proporción relativa del tejido epitelial y conjuntivo presente, los papilomas contienen poco tejido conjuntivo, mientras que los fibropapilomas están formados sobre todo por ese, con escasa cantidad de tejidos epiteliales, los papilomas son el resultado de una hiperplasia de las células basales de antígeno viral (Rodastits *et al*, 1999).

4.8. Factores que predisponen al bovino a contagiarse de papiloma

Estados de inmunosupresión, edad del animal, estado nutricional, parasitosis, mal manejo, estrés, fármacos inmunosupresores, causan que los bovinos estén suceptibles a la infección del papiloma (Jubb y Palmer, 2007; Bernard *et al.*, 2010).

4.9. Situación del BPV en el Mundo

Las infecciones originadas por BPV se han descrito a lo largo de todo el mundo, aunque no todos los genotipos presentan la misma prevalencia. Los genotipos BPV-1 y 2 son los tipos de virus identificados con mayor frecuencia, aunque se necesitan más estudios epidemiológicos para determinar la prevalencia real de los genotipos más escasamente representados (Pathania *et al.*, 2012).

Aun no existe un estudio epidemiológico que permita definir la distribución de BPV-1 y 2, ya que son los dos tipos de virus con mayor frecuencia, aunque ya existe una gran cantidad de estudios moleculares (PCR). El virus se ha expandido alrededor del mundo, en los países donde se ha descrito el virus son: Arabia Saudita (Elzein *et al.*, 1991), Nueva Zelanda (Munday y Knight, 2010), Brasil (Wosiacki *et al.*, 2006), Japón (Ogawa *et al.*, 2007), Suecia (Ahola *et al.*, 1983), Alemania (Pawellek *et al.*, 2002), India (Silvestre *et al.*, 2009), Italia (Borzacchiello *et al.*, 2003), Portugal (Resendes *et al.*, 2011), Rumania (Balcos *et al.*, 2008), Australia, Suiza, Reino Unido, Canadá, entre otros (Carr *et al.*, 2001; Chambers *et al.*, 2003; Haralambus *et al.*, 2010).

El mayor número de registros publicados proceden de Brasil y Japón, puesto que Brasil es uno de los principales productores de carne de ganado bovino a nivel mundial y sexto productor mundial de leche, por lo que se ha realizado una gran investigación asociados a estos tipos de tumores (Freitas *et al.*, 2011).

4.10. Situación del BPV en México

La BP es una enfermedad la cual se ha presentado frecuentemente en los ranchos ganaderos mexicanos, se ha buscado solucionar esta enfermedad de distintas maneras, aunque la mayoría no se ha reportado en la literatura.

Los últimos artículos reportados con mayor importancia proceden de los siguientes estados: Yucatán, se estimó la de prevalencia de BP en un hato bovino y se evaluó un programa de control mediante el uso de una autovacuna con estimulación del sistema inmune de los animales (Rodríguez *et al.*, 2015); Veracruz, la comparación de una autovacuna con ivermectina en 1 y 2 aplicaciones, en donde la autovacuna actuó de mejor manera que la ivermectina para el tratamiento de la BP (Casas,

2009); y Tamaulipas, con el estudio de subtipos de BPV-1 y BPV-2, donde se analizaron 52 verrugas utilizando la técnica de la PCR usando primers específicos para amplificar el gen E7, lo que constituye la primera caracterización molecular de papilomas en México (Rojas *et al.*, 2016).

4.11. Susceptibilidad de Razas a la Papilomatosis

Un estudio del INIFAP (2015) menciona que algunas razas en que son las que con más facilidad pueden contagiarse de este virus, las cuales son; Simmental, Holstein, Jersey, Girolando, y Suizo.

4.12. Lesiones macroscópicas, características patológicas y clínicas

Los papilomas y fibropapilomas pueden tener regresión espontánea o permanecer hasta 6 a 18 meses; en caso de ser múltiples y/o dependiendo de su localización pueden ocasionar pérdida de la condición corporal. Los signos clínicos varían dependiendo de la localización de las lesiones por ejemplo si se localizan en espacio interdigital son dolorosos y pueden provocar cojeras o postración. En el tracto gastrointestinal rara vez exhiben manifestaciones clínicas, pero pueden causar anorexia o timpanismo. En la glándula mamaria dificulta el ordeño o complicarse con infecciones secundarias y generar mastitis. En vagina o pene pueden interferir con el coito, sangrar, infectarse e interferir en la reproducción de los bovinos, dado que una una CC baja podría causar anestro en las hembras (Jubb *et al.*, 2007; Salib *et al.*, 2011).

Un estudio realizado por (Fenner *et al.*, 1992) describen la papilomatosis se desarrolla como pequeños crecimientos nodulares de la piel o de las membranas

mucosas. Ellos crecen lentamente al comienzo y luego más rápidamente, hasta que eventualmente se hacen más grandes, cornificados, pendulantes y algunas veces toman forma de coliflor. Las verrugas finalmente se necrosan y caen. Los sitios más comúnmente afectados son la cabeza (particularmente alrededor de los ojos), el cuello y los hombros. Las verrugas también se pueden presentar en el pene de los toros y en la mucosa vaginal de las hembras, produciendo dificultad para reproducirse.

4.13. Impacto económico

La papilomatosis bovina es una entidad clínica que ocasiona pérdidas económicas debido a retrasos en el crecimiento, disminución en la ganancia de peso, retrasa el peso de los animales, disminuyendo hasta un 35 % el precio de los animales al momento de su venta. Puede interferir con la reproducción y afectar el aspecto estético de los animales (Orozco y Padilla, 2016). El principal obstáculo que se presenta en el control de esta enfermedad es la ausencia de un marco epidemiológico que ponga de manifiesto la relevancia de la enfermedad, para estimar así, las pérdidas económicas atribuibles a la enfermedad. Esto, aunado a la carencia de una vacuna preventiva y/o tratamientos específicos ocasiona que los productores empleen alternativas poco exitosas para la prevención y el tratamiento de esta enfermedad (Orozco y Padilla, 2016). La subestimación de las consecuencias de esta enfermedad, han impedido que se implementen las estrictas medidas de control que se requieren para abatir esta enfermedad (Orozco y Padilla, 2016).

La aparición de la papilomatosis bovina se traduce en pérdidas económicas, ya que disminuye la ganancia en exhibiciones de ganado de alto valor monetario y genético, así como su venta de ganado o la venta de canal (castigando su precio o no vendiéndose), en caso de encontrarse en las ubres dificulta el ordeño y provoca mastitis mientras que en el caso de verrugas genitales dificulta la monta. Estando afectada la piel, esta disminuye el valor o incluso puede no llegar a usarse al no poder trabajarse, también los productos derivados de los órganos en el caso de verrugas en tracto digestivo (Orozco & Padilla, 2016).

4.14. Riesgo a la salud pública

Aunque se da por válido que los PV son especie específicos y, por ende, no representan un riesgo a la salud pública humana, se han reportado casos en los que se han aislado secuencias específicas de BPV-1 de muestras provenientes de lesiones cutáneas que aparecen en manos de los trabajadores de las unidades de producción bovina. En todo caso, la infección parece seguir un patrón autolimitante y el humano funciona, entonces, como un hospedador incidental del papilomavirus bovino (Orth *et al.*, 1981).

4.15. Métodos de Control

El método puede ser de orden químico, físico o biológico, y con el fin de producir un cambio favorable en la enfermedad; los remedios más importantes son los medicamentos que actúan no solo en función de su composición química, sino de acuerdo con su composición farmacéutica y su dosis (Sumano *et al.*, 2015), de los cuales se describen los siguientes tratamientos utilizados:

- Según Quiroz (1991) las mamas y los órganos genitales pueden ser afectados por la enfermedad, en cuyo tratamiento se ha usado el sulfato de magnesio al 2 %. La autohemoterapia por vía intramuscular es también una propuesta de Delgado (2003), así como el uso de la sal y clorox de uso tópico (González, 2003), el yoduro de sodio por vía intravenosa (Ruiz, 2003) y la sueroterapia (Palencia *et al.*, 2003).
- Delgado (2003), utilizó el machacado inactivado con formol y añadiendo amoxicilina, teniendo un éxito por encima del 90 %, habiendo fallado solamente en aquellos muy grandes, y aquellos que se encontraban en pezones y que tenían base ancha.
- González (2003): extrajo 10 cc de sangre del animal, y reinyectársela intramuscular en el día 1 del tratamiento. En el día 3, extraer 8 mL y reinyectar. Finalmente, en el día 5, extraer 6 mL y reinyectar intramuscular. También experimento con la elaboración del suero, triturando la verruga e inyectando al animal. Ambas le dieron buenos resultados.

4.15.1 Métodos Químicos

4.15.1.1 Uso de cobre y calcio

Se ha utilizado en tratamientos con 200 mg de etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre parental, también con 287.4 mg de una combinación de cobre orgánico, constituida principalmente con lactobionato de cobre. La utilización parental de etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre presentó un 45 % de cura contra 6.7 % del otro (Franco *et al.*, 2007); Al igual se ha utilizado, arete de alambre de cobre

colocado en el pavellón auricular, aunque estadísticamente no ha dado resultados esperados (Valencia *et al.*, 2013).

4.15.1.2 Clorobutanol/Verrugal

Talvez actue en el metabolismo del virus causante de la papilomatosis impidiendo su crecimiento, el mecanismo de acción del compuesto no es muy bien conocido, pero se cree que interfiere en la síntesis del ADN y la transcripción del código genético del virus. La aplicación de 1 mL por cada 20 kg de peso vía subcutánea (Clorobutanol 100 g y vehículo oleoso c.s.p 100 mL), con una eficacia del 100 % en animales con una enfermedad leve y moderada, a comparación con animales cuya enfermedad estaba en grado severo (15 %-70.5 %) (Bolaños *et al.*, 2017).

4.15.1.3 Vitamina ADE

Es considerada anti-infecciosa de los epitelios, regula el metabolismo de calcio y de fosfato, evita la alteración de sustancias fácilmente oxidables (ácidos grasos insaturados), resistencia a enfermedades infecciosas y parasitaria. Se utiliza en conjunto con otro tratamiento como la autovacuna, con una efectividad del 90 % (Montaño *et al.*, 2006).

4.15.1.4 Levamisol Fosfato

La acción inmunoestimulante de Levamisol en el tratamiento de la BP acelera la recuperación de los animales, sin influir en la efectividad de los tratamientos, de igual manera actúa como agente modulador de la respuesta inmunitaria del hospedador, se utiliza 3 dosis de Levamisol al 22.3 % a razón de 1 mL / 55 Kg de

p. v. de 3 a 5 días antes del tratamiento, en días alternos, su efectividad es del 90 % (Zaldívar *et al.*, 2014).

4.15.2. Método Físico

4.15.2.1 Arete de cobre

Son varios los factores predisponentes que intervienen en el desarrollo de la papilomatosis bovina, pero, todo indica que las deficiencias de cobre, sea cual sea la causa favorece el desarrollo de la patología viral. Mufarrege (2003) plantea, que la falta de cobre (Cu) en la dieta afecta la producción de anticuerpos. En este sentido, Chandra (1997) plantea que la deficiencia de vitaminas y minerales (Cu), incrementan la susceptibilidad del huésped a sufrir infecciones. En otro estudio, Garcia (2017) menciona, que la deficiencia de Cu disminuye la actividad de la enzima citocromo oxidasa, necesaria para la actividad fagocítica. Las deficiencias minerales causan predisposición a enfermedades infecciosas y virales, afectan negativamente al sistema inmunológico del animal, la producción de anticuerpos y con ello la capacidad de respuesta a la infección. Es por ello que en ocasiones el arete de cobre funciona en algunos animales, ya que se considera el cobre puede hacer que el sistema inmune mejore y elimine al papiloma, de importancia mencionar que no siempre funciona.

4.15.2.2 Método quirúrgico

Consiste en una correcta extracción de un papiloma presente en un bovino, se realiza en aquellos papilomas que se encuentran localizados en partes anatómicas que afectan la funcionalidad normal del animal (Arieta *et al.*, 2014).

4.15.3 Métodos biológicos

4.15.3.1 Vacuna Atenuada del Virus BPV Newcastle la Cepa Sota

Tiene propiedades antineoplásicas inmunoestimuladoras, puede infectar y lisar directamente una variedad de células tumorales sin afectar de manera significativa a células normales, activa los macrófagos para realizar actividades antitumorales, induce la producción de factor- α de necrosis tumoral en células mononucleares que es un factor inmune que ataca y destruye células cancerígenas (Puri, 2009), su efectividad es de 8.8 % en 60 días (Delgado, 2003).

4.15.3.2 Autohemoterapia

Se fundamenta de que la sangre obtenida de la vena, y aplicada por vía intramuscular, es metabolizada y tomada por las células encargadas de la fagocitosis, de manera que inicia una respuesta inmune, que es apoyada por los metabolitos de la sangre, por eso algunas verrugas caen y su efectividad es de 50% (Delgado, 2003).

4.15.3.3 Autovacuna

Es un material preparado con verruga del mismo animal, elaboradas con tejidos de verruga del animal afectado, se desactiva con formol y se suspende en una solución salina con un complejo de antibióticos, puede inyectarse vía subcutánea, pero se

sabe que produce mejores resultados por inyección intradérmica, su ventaja es que incluye los tipos locales de virus, la recuperación ocurre entre 3-6 semanas post-aplicación y su efectividad es del 85% en verrugas del cuerpo y a nivel genital (Peña *et al.*, 2005) y 33 % en las verrugas de los pezones (Radostits *et al.*, 2002).

La vacuna se prepara a partir del tejido verrugoso homogeneizado, que se filtra e inactiva con formol debido a los diferentes tipos de VPB, es preciso ser cuidadoso al seleccionar los tejidos. Por lo general pueden seleccionar según tipo de tumor, localización y composición histológica. También puede utilizarse muchos tipos diferentes de tejido en la vacuna. La diferente respuesta de un animal a otro, en cuanto a la regresión de la enfermedad tras la vacunación de un grupo de terneras con una vacuna preparada a partir de una sola ternera del grupo ha sido atribuida a la presencia de más de un tipo de VPB en el grupo. El estadio de desarrollo de la enfermedad también es importante, ya que los virus están presentes en mayor concentración en el tejido epitelial de las verrugas más antiguas que en las más recientes. La vacuna puede administrarse de manera SC, pero se ha afirmado que los resultados son mejores tras la inyección ID. Las dosis varían, pero se recomienda de dos a cuatro inyecciones a 1 o 2 semanas de intervalo. Se obtiene la curación en 3 a 6 semanas en el 80 al 85 % de los casos cuando las verrugas están en la superficie del cuerpo o en el pene de los animales, pero solo en el 33% cuando están en los pezones. La respuesta a la vacunación de las verrugas planas y sesiles es mala (Radostits *et al.*, 1999).

4.15.3.4 Sueroterapia

Consiste en extraer sangre de la yugular de bovinos que estén en períodos de recuperación de la enfermedad, se obtiene el suero por decantación (debe ser tratado con penicilina de 400,000 U (0.02 mL) por mL de suero), la muestra se centrifuga y se aplica el suero a razón de 1 mL por cada 10 Kg de subcutáneo, su efectividad en 15 días es del 49.15 % y su efectividad a los 30 días es del 100 % (Palencia *et al.*, 2003).

4.15.3.5 Thuja

La tuja tiene propiedades importantes como aceites esenciales, quercitrina, piniciprina, tuyaona, tanino, rico en vitamina C y derivados de la podofilotoxina (Peña *et al.*, 2005). Estas propiedades tienen efectos en la eliminación de los papilomas, por su acción directa o indirecta por los mismos, se utiliza las hojas de la planta para la maceración con el fin de obtener el jugo de la misma, el jugo se mezcla con alcohol concentrado, se filtra y se deja reposar por 8 días, después administrar por vía oral a razón de 5 gotas cada 15 días, su efectividad es del 100 % al cabo de 7 días (Peña *et al.*, 2005).

4.15.3.6 Higo

El higo tiene propiedades analgésicas, antiinflamatorias, expectorantes y digestivas (hojas secas), laxantes (fruta fresca), antiparasitaria, antibióticas, antitumorales, energéticas, mineralizantes y tonificantes (Grosso *et al.*, 2010). Además, el látex del higo ha sido reportado como un remedio eficaz en el tratamiento de BP, se aplica directamente el látex de la planta sobre las lesiones tumorales (Grosso, 2010),

primero se corta el higo en el tallo, cae una sustancia de la rama color leche, la sustancia se agrega sobre la verruga, se aplica dos veces por día durante una semana y su efectividad es del 50 % en glándulas mamarias en seis semanas (Serrano, 2010).

4.15.3.7 Vacunas Profilácticas y Terapéuticas

La idea de desarrollar una vacuna para combatir BPV comenzó con la infección de extracto de papilomas de Shope (Shope 1937). Desde entonces, se propusieron diferentes modelos de vacunas tales como: la realización de estudios sobre la vacunación del BP utilizando proteínas recombinantes estructurales (Jarret *et al.*, 1991); la vacunación de bovinos con BPV tipo 4 L2 provoca la producción de anticuerpos neutralizantes del virus (Gaukroger *et al.*, 1996); la expresión de la proteína L1 de BPV-1 en la planta *Nicotiana benthamiana* como preludeo para producir una vacuna candidata y potencial (Love *et al.*, 2012); la clonación y expresión de proteínas recombinantes BPV-1 y BPV-2 E6 en bacterias con la realización de un análisis in silico para el desarrollo de una estrategia para el estudio sistemático de otras oncoproteínas de PV, y así obtener productos biotecnológicos como anticuerpos y vacunas potenciales (Mazzuchelli de Souza *et al.*, 2013).

4.16. Vacuna

Las vacunas son antígenos preparados para ser usados en la prevención de enfermedades causadas, a las aves y al ganado, por bacterias, virus, micoplasmas, hongos, protozoos y parásitos o sus toxinas (Jaime Borrell, 2010).

4.17. Adyuvantes

Son sustancias químicas, materiales de origen microbiológico o mezclas que, administradas juntamente con el antígeno, contribuyen a la producción de una mayor respuesta inmunitaria (Jaime Borrell, 2010).

- **Sales de aluminio y calcio:** Retrasan la liberación del antígeno desde el punto de inoculación y permiten obtener respuestas inmunitarias más prolongadas. Las sales más usadas son el fosfato e hidróxido de aluminio y fosfato cálcico.
- **Inmunoestimulantes:** Aumentan o reestablecen las defensas inmunitarias. Pueden ser materiales de origen biológico o químico
 - Fracciones bacterianas
 - Sustancias vegetales
 - Inmunoestimulantes de origen químico

4.18. Inactivadores

Son sustancias que eliminan la capacidad patógena de los antígenos. Se utilizan solos o combinados con la acción de agentes físicos como el calor.

- **Formol:** Actúa sobre los grupos amino y amida de las proteínas y sobre los grupos amido que no establecen puentes de hidrógeno de las bases púricas y pirimidínicas de los ácidos nucleicos. El formol es el inactivador más usado en la elaboración de anatoxinas. Su cantidad máxima en el producto final está limitada por Farmacopea, para evitar su acción sobre los tejidos animales.

4.19. Excipientes

Son diluyentes líquidos o sólidos que permiten conseguir la concentración de principios activos (antígenos) en el producto final, para que sea fácilmente dosificable.

4.20. Prevención

Por lo general no se establecen procedimientos específicos de lucha contra esta enfermedad, y tampoco están justificados, debido a la impredecible naturaleza de esta y a su escasa importancia económica. Se ha visto experimentalmente que la vacunación previene de forma eficaz la enfermedad y que protege por completo a las vacas frente a una correcta provocación experimental. La vacuna debe contener todos los serotipos del papiloma virus, ya que las verrugas son muy específicas en cuanto al tipo causal.

Debe recomendarse que se evite el contacto íntimo entre animales infectados y no infectados, y debe evitarse el empleo de utensilios comunes en animales afectados y no afectados (Radostits *et al.*, 1999)

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Área de estudio

El presente estudio se inició desde el año 2022, en 5 explotaciones localizadas en la cuenca del Papaloapan, de la región Tuxtepec, todas ellas con problemas de papilomatosis bovina. Sin embargo, se ha trabajado en esta área, al menos 5 años atrás.

- La primera unidad de producción (UP) se denomina “Rancho Santa María y Guadalupe”, con ubicación en la colonia el desengaño de la ciudad de Tuxtepec,
- La segunda UP se denomina “Rancho El Palmar” ubicada en la carretera Tuxtepec- El porvenir en el kilómetro 10.
- El tercer lugar contamos con la UP llamada “Rancho Las Limas” con ubicación en la colonia Las Limas en la ciudad de Tuxtepec.
- Como cuarta UP esta “Rancho La Loma” ubicado en la carretera Tierra Blanca - Sayula de Alemán.
- La quinta UP se denomina “Rancho La Montaña” ubicado a un costado de la localidad de Chiltepec.

La elaboración de la vacuna se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Animal del Centro de Investigaciones Científicas de la Universidad del Papaloapan con las coordenadas: 18°00'45"N 96°10'17"O / 18.012433, -96.17128.



Figura 1. Centro de Investigaciones Científicas.

5.2. Selección de animales infectados

Todos los animales de las explotaciones fueron inspeccionados clínicamente, para determinar el número de infectados y el porcentaje de invasión en el cuerpo por papilomas. Los animales infectados con BP fueron separados mediante características fenotípicas de los papilomas (planas, penduladas o mixtas), cantidad aproximada por animal y localización de estas y los animales sanos fueron apartados también y llevados a otro sitio, el objetivo era que no estuviesen juntos de los animales que podían contagiarlos.

- La primera unidad de producción (UP) se denomina “Rancho Santa María (Ma.) y Guadalupe” se tomaron como muestra 110 animales.
- La segunda UP se denomina “Rancho El Palmar” se tomaron como muestra 337 bovinos.
- El tercer lugar contamos con la UP llamada “Rancho Las Limas” se tomaron como muestra 12 animales.

- Como cuarta UP esta “Rancho La Guadalupe” que se tomaron como muestra 14 animales.
- La quinta UP se denomina “Rancho La Montaña” se tomaron como muestra 8 animales.

5.3. Recolección de Muestras

En todas las explotaciones los animales se clasificaron de acuerdo con la cantidad de papilomas que presenten en el cuerpo.

Esta clasificación se hizo de acuerdo con el grado de invasión corporal:

- Primer grado animales con nula infección y se vacunaron como medida preventiva.
- Segundo grado de un 1 a 25 % de papilomas.
- Tercer grado de 25 % en adelante de papilomas.

Se recolectaron las muestras de los bovinos infectados con BP, utilizando un bisturí para cortar el papiloma y guantes de nitrilo tal como se muestra en la Figura 2, la muestra recolectada fue de 35 g por animal o de acuerdo con la cantidad invasiva el papiloma, una vez recolectada la muestra, se colocaron en tubos cónicos estériles de 50 ml para posteriormente ser transportadas en frío y almacenarlas a 4 °C, su procesamiento no debe rebasar las 48 horas, todo el procedimiento de elaboración será dentro del Laboratorio de Biotecnología Animal del Instituto de Biotecnología de la Universidad del Papaloapan.



Figura 2. Recolección de muestra de papiloma.

5.4. Inactivación de los Virus

Las muestras se lavaron con abundante agua destilada para eliminar impurezas por arrastre, tierra, pelos, estiércol (figura 3 y 4), se utilizó una licuadora para triturar los papilomas lo más fino posible, para facilitar la molienda se le agregó agua desionizada y esterilizada con luz ultravioleta en una campana de flujo laminar, se realizó la molienda en varias partes, cada molienda consistió en 300 g de material del papiloma agregando 200 mL de agua desionizada. Una vez molida la muestra se le agregó 100 mL de formol al 7.5 %, para inactivar los virus. Se dejó 24 horas expuesta la muestra con formol, a una temperatura de 4 °C. (Karen J. Auburn, 1998, modificado de protocolo de elaboración Radostitis *et al.*, 2002).



Figura 3. Papiloma después de lavarlo.

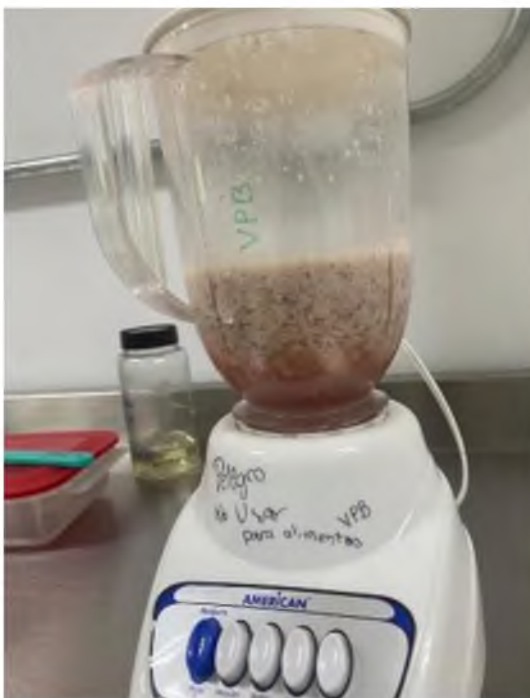


Figura 4. Papiloma después de ser triturado.

5.5. Formulación y desarrollo de la vacuna

Una vez transcurridas las 24 horas de reposo se colocaron las muestras para retirar las partículas más grandes para ser depositadas en tubos cónicos de 50 mL para ser llevados a una centrífuga seguido de esto, se centrifugo a 6000 rpm durante 5

minutos (Figura 4), en una centrifuga refrigerada, hasta que en la muestra se separe totalmente, el sólido del líquido (Figura 5), una vez conseguido esto, se procedió a colocar el sobrenadante en un frasco de cristal color ámbar y se le agrego antibiótico en proporción 2:1 (sobrenadante: antibiótico) con la finalidad de eliminar bacterias y/o agentes patógenos que se pudieran haber quedado en la solución se utilizó como antibiótico la oxitetraciclina. Una vez hecho esto se procedió a reposar durante 24 horas a una temperatura 4 °C. Ya transcurridas las 24 hora se le agrega un estimulante metabólico en una proporción de 2:1:1 (sobrenadante: antibiótico: estimulante metabólico) con el propósito de activar al sistema inmune de los animales y ayudar a generar anticuerpos para los agentes extraños una vez que se le aplicaron las vacunas, el estimulante metabólico utilizado fue ácido yatrénico más caseína, (Karen J. Auburn, 1998, modificado de protocolo de elaboración Radostitis *et al.*, 2002).

El manejo de las vacunas es siempre mantenerlas cubiertas de la luz y mantenerlas a temperaturas bajas de refrigeración o en hielo según su manejo, transporte y aplicación.



Figura 5. Separación del solida del líquido.



Figura 6. Muestra centrifugada.

Cada proceso de elaboración de todo el producto consistió en 300 g de material del papiloma, mezclado con 200 mL de agua desionizada para su trituración. Posteriormente a esa mezcla se le agregó 100 mL de formol al 7.5%, 100 mL de oxitetraciclina y 100 mL de ácido yatrénico más caseína (figura 7).



Figura 7. Vacuna lista para refrigerarse.

5.6. Evaluación de la vacuna

La evaluación de la vacuna inicio al aplicarla vía subcutánea o intramuscular, aplicando 5 mL en la primera aplicación por animal, posteriormente con un intervalo

de 15 días, se reforzó la aplicación con dos dosis más o hasta 4 de 5 mL por animal, con la finalidad de hacer eficiente el tratamiento, la vacuna se aplicó a 3 grupos de animales:

Grupo 1. Animales que no presentan el patógeno, pero se les aplicó como prevención una dosis.

Grupo 2. Animales infectados que se les aplicó hasta dos dosis.

Grupo 3. Animales con gravedad. Hasta 4 dosis.

Se monitoreó a los animales durante todo el periodo de vacunación, para poder descartar reacciones que puedan perjudicar la vacuna o en su caso descartar intoxicaciones.



Figura 8. Aplicación de la vacuna.

Se realizaron las anotaciones correspondientes de los tratamientos para así conocer la evolución de cada animal después las aplicaciones de vacuna.

Es importante reconocer que cuando se aplica un tratamiento en los animales este no actúa de manera correcta si la condición corporal del animal es muy baja, si no

hay un balance entre la nutrición, y el manejo que se haga con los animales y en las instalaciones.

Ya que el animal al tener desbalance nutricional en su organismo y estrés por factores que no se cuidan en la unidad de producción, el sistema inmune puede atrofiarse y no tendríamos una correcta respuesta al tratamiento contra el BPV.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el software SAS (prueba), con una prueba de chi-cuadrado.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Papilomas encontrados

Los papilomas epiteliales fueron identificados en diferentes partes de cada animal; cabeza, quijada, punta de codo, pecho, testículos, papada, cuello, pene y glándulas mamarias (figura 7, figura 8 y figura 9), sin embargo, existen reportes que es posible que se pueda localizar en otras regiones como en la cola y en los cuartos delanteros y traseros (Monteiro *et al.*, 2010), no se identificaron verrugas en las partes internas de los animales debido a que no se sacrificó ningún animal. Nuestro interés se enfocó en papilomas epiteliales por el rápido desarrollo de estos, al no tener la sanidad adecuada pueden llegar a desarrollar tumores malignos (Rojas *et al.*, 2016).



Figura 9. Papiloma en el cuello.



Figura 10. Papiloma alrededor de los ojos.



Figura 11. BPV en testículos.

En el Cuadro 1 se muestran los diferentes tipos de papilomas encontrados en las UP de acuerdo con el número de animales identificados. Donde se observa que el papiloma con forma de grano de arroz se encuentra en mayor proporción en la región. Hay ranchos en los que solo se encontró un tipo de papiloma ya que de igual manera el número de animales en esas unidades fue menor.

Cuadro 1. Características de los papilomas encontrados en los diferentes ranchos en la región de la Cuenca del Papaloapan, adaptado de Monteiro *et al.*, 2008.

Características de los papilomas	Rancho				
	El Palmar	Santa María Guadalupe	La Guadalupe	Las limas	La montaña
Frondosos	16	5	ND	6	7
Con forma de granos de arroz	53	46	14	2	ND
Con forma de coliflor	12	17	ND	5	1
Pedunculados	16	6	ND	3	ND

ND: no detectable

Durante la recolección de muestras se pudo notar algunos papilomas al momento de cortarlos causaban sangrado en el animal, pero había otros que pareciera que aún no se conectaban tanto al tejido porque al desprenderlos no había sangre. De igual manera había papilomas que expendían un olor muy desagradable. Otros que se hacían como racimos que colgaban de la piel del animal, esos eran más fácil de cortar y recolectarlos, pero el papiloma que es como en forma de arroz es muy pegado a la piel por lo tanto era más difícil obtener la muestra.

Un factor importante que nos ayudó o nos complicó la recolección de muestra, fueron las instalaciones, ranchos con muy buenas instalaciones que facilitan el manejo de los animales, mientras que los ranchos que carecen de instalaciones hacen más complicado el trabajo de recolección de muestras.

Se observaron muestras de diferentes tipos, había papiloma frondoso en forma de hoja, con un color gris, este tipo se encontraba más por la zona del cuello, tenían medidas que oscilaban entre los 2 y 20 cm de diámetro. El tratamiento debe ser adecuado, de lo contrario el animal puede llegar a tener problemas por infecciones bacterianas, problemas de alimentación, problemas de moscas u hongos.

La cantidad de papilomas que puede invaden el cuerpo del animal, genera un gran problema, por lo que muchos ganaderos optan por el sacrificio de los animales para evitar que este, sea un vector en su hato ganadero.

Se identificó papilomas con forma de granos de arroz con un color de gris oscuro, los cuales tienden a desarrollarse en la cabeza, cuello, espalda y en las ubres, no perjudican la alimentación del animal, pero si a la estética del animal cuando se venden para la crianza o para el consumo humano. La persistencia puede durar meses o años y si no se trata adecuadamente y puede a invadir una séptima parte

de cuerpo. Sin embargo, Terai *et al.*, (2002) describen que el BPV-5 induce a este tipo de papilomas en forma de arroz (Ogawa *et al.*, 2007).

El papiloma en forma de brócoli o coliflor, de color gris muy oscuro, fue muy común en la cabeza de los animales, en las orejas, tabla del cuello, y no era de gran tamaño, presento las dimensiones en promedio 3 y 6 cm de diámetro, el animal infectado por este papiloma característico los dueños mencionan que presentan prurito, entonces el animal al buscar un sitio donde él pueda saciar esa picazón, generando heridas las cuales pueden ser entradas para diferentes agentes patógenos y causar otras infecciones. En Yucatán, México, (Vivas *et al.* 2015) encontraron la prevalencia de esta característica morfológica con un porcentaje del 47.6 % de 22 animales infectados, también se detectó el 14.3 % con dos tipos de papilomas en el mismo animal, uno con forma de coliflor y el otro pedunculado, lo que determina que la característica morfológica presenta una alta prevalencia en estas dos zonas del sureste mexicano. Por lo que es necesario estrategias de selección en la compra para evitar que el BPV siga distribuyéndose.

De forma pedunculada es otro tipo de papiloma que se encontró los ranchos que se tomaron muestras, pero se encontraron muy pocos de estos, aunque no se descarta la idea de que en otras unidades de producción también hay este tipo de papilomas.



Figura 12. Papiloma en forma de grano de arroz.



Figura 13. Papiloma en forma de coliflor.



Figura 14. Papiloma en forma pedunculada.

En algunos animales se encontraron dos formas diferentes de papilomas en el mismo animal, generando una doble problemática porque cada tipo de papiloma ataca a diferentes partes del cuerpo, por tal razón el animal tiene daños más severos. Diferentes autores reportan que han encontrado hasta cinco formas diferentes de papilomas en un mismo animal (Vivas *et al.*, 2015) de los cuales el BPV tiene una alta predilección por el ganado de la raza *Bos taurus* (Araldi *et al.*, 2015) en especial las vacas de la raza Holstein y en la zona del Papaloapan en ganado de la raza Suizo.

En el cuadro 2 se observa la cantidad total de cada tipo de papiloma que se encontró durante todo el experimento, se puede ubicar la zona del cuerpo donde más se encuentran los papilomas, su tamaño y el porcentaje de invasión corporal.

Cuadro 2: Distribución los papilomas según las características que presentan en el ganado según su ubicación, tamaño e invasión.

Características De los papilomas	No. De animales	Ubicación de los papilomas	Tamaño (cm)
Frondosos	34	Cuello, pecho y papada	0.5 a 60
Con forma de granos de arroz	115	Cabeza, cuello, espalda y en la ubre	0.3 a 1.2
Con forma de coliflor	35	Cuello, papada, ubre, testículos, lomo	0.3 a 0.5
Pedunculados	25	Cabeza, cuello, testículos	0.5 a 3.5

La región de la cuenca del Papaloapan se caracteriza por tener una alta temperatura, humedad y precipitación anualmente lo que favorece el óptimo desarrollo de BPV y la distribución del virus en los diferentes hatos, por lo que no

se tiene animales de razas puras *Bos Taurus* puesto que este tipo de ganado difícilmente se adapta a la gran cantidad de ectoparásitos hematófagos, portadores de una gran cantidad de enfermedades y también a los endoparásitos que abundan en esta región, además de las altas temperaturas y humedad, todo esto genera grandes pérdidas económicas al productor y al animal problemas de estrés que hacen que su sistema inmune se deprime y puedan contraer fácilmente enfermedades, todo esto da como resultado leche, carne y cuero de mala calidad. Debido a la demanda y a las condiciones de esta región se opta por tener en las unidades de producción ganado de doble propósito, generado a través de la cruce de animales *Bos taurus* con *Bos indicus*, ganado que es fácil de adaptarse a la zona, con mayor resistencia y rusticidad.

El ganado bovino infectado de papiloma epitelial sufre alteraciones en su estado generalmente por el olor y su consistencia es muy común que las moscas lo invadan pudiendo causar infecciones secundarias, causar una miasis y complicar el cuadro infeccioso. La mayoría de las infecciones en el ganado se presenta en animales menores a 24 meses (Vázquez *et al.*, 2012). Cuando la enfermedad se distribuye en la ubre de las vacas dificulta la ordeña y los becerros son incapaces de amamantar de forma correcta (Vivas *et al.*, 2015) y llegan a contagiarse al estar en contacto directo con el virus. Por otro lado, no se encontraron papilomas en las pezuñas en el espacio interdigital, cojinetes o talones, los cuales pueden causar cojeras hasta postración (Borzacchiello & Roperto, 2003). Debido a todo lo anterior, es recomendable poner en cuarentena los animales que recién lleguen en la UP, ya que, de ser portadores de virus propagarían la enfermedad.

6.2. Efectividad de los tratamientos

Cuadro 3. Total, de animales en el experimento.

Tratamiento (Grado)	No. de aplicaciones	No. de animales	No. de animales posvacunación (90Dias)	Probabilidad
T1	1	276	433	<0.0001
T2	1 a 2	158 (81.64%)	29	<0.0001
T3	1 a 4	51 (54.90 %)	23	<0.0001
Animales totales		485	485	

$p < 0.001$

En el cuadro 3 se muestra la cantidad total de animales que fueron expuestos a la vacunación, siendo el tratamiento 1 los animales que recibieron sus dosis como prevención, lo cuales se puede observar que aumenta después de 90 días posvacunación debido a los animales recuperados del t2 y t3, la aplicación de la histovacuna para el papiloma bovino mostro una efectividad del 81.6 % de mejora de los animales considerados en el grupo 2, mientras que en los animales considerados en el grupo 3 mostraron un porcentaje de mejora de 54.9 %, ($\chi^2 = 134.34$; g.l. 2, $p < 0.001$).

El cambio de los animales, de estar infectados a presentar la ausencia del papiloma, su diferencia fue significativa. Dando como resultados positivos para nosotros como evaluadores de la vacuna y también para los ganaderos que mencionan que muchas veces gastan más en otros tratamientos que no sirven, y que solo pierden tiempo y dinero. Dows y Arcia (2008) reportan en su trabajo que utilizaron dos tratamientos de vacuna, un tratamiento con una dosis y el segundo tratamiento con dos dosis, de 10 mL cada dosis, concluyen en que hizo el mismo efecto en los dos

tratamientos y que los animales muestran cero papilomas a los 90 días después de la vacunación. Mientras tanto Torres *et al.*, 2016, en su estudio publican que utilizaron 3 tratamientos, T1 autovacuna, T2 hemoterapia y el T3 la combinación de los anteriores, obteniendo sus resultados que el T2 (hemoterapia) resultando mejor ya que en el día 30 presentaba disminución del papiloma, pero no su erradicación. Un factor importante que podría marcar la diferencia de este trabajo es que se evaluó hasta los 90 días y se obtuvieron animales con cero papilomas.

6.2.2 Factores que pudieron afectar la respuesta inmunitaria

La nutrición juega un papel importante en la salud de los animales, en la aplicación de la vacuna se observaron animales con una condición corporal baja y una vaca con CC muy baja es demasiado propensa a enfermarse ya que si el sistema inmune no funciona correctamente estaría dando una respuesta casi nula o muy lenta en el tratamiento contra la papilomatosis bovina.

Las dietas aportan los aminoácidos (aa) necesarios, estos son los componentes básicos de las proteínas y también tienen funciones reguladoras en el metabolismo y las funciones celulares fortaleciendo el sistema inmunológico de los animales (Li *et al.*, 2007)

En el T2 la mayoría de los animales eran más jóvenes (<12) y con una invasión menor de papiloma y también con una infección de menor tiempo porque lo que se refleja una mejor respuesta a la vacuna.

El T3 se identificaron animales de mayor edad, animales con una infección de más tiempo presentando una resistencia a varios tratamientos.

6.3. Costo-beneficio del tratamiento

El costo por dosis de la vacuna es de 30 pesos mexicanos, para el tratamiento 3 que se puede prolongar hasta 4 aplicaciones representaría un costo de 120 pesos mexicanos, lo cual comparado con la perdida que se obtendría si el animal se vende así infectado que su precio baja hasta un 60 %, no representa un gasto fuera de lo normal para el ganadero. Además de que erradicando esta infección del bovino puede mejorar su peso, su apariencia física y se obtendría un mejor precio al momento que el ganadero decida venderlo.

6.4. Evidencias



Figura 15. Becerra día 0 de aplicación.



Figura 16. Becerra día 30 posvacuna, dos aplicaciones.



Figura 17. Becerro 90 días posvacunación.



Figura 18. Becerro en día 90 después de la vacuna.

7. CONCLUSIONES

Se logro elaborar y evaluar una vacuna de virus inactivados del BPV, que de acuerdo con los resultados obtenidos mostró ser eficaz para el tratamiento de BPV.

De acuerdo con el grado de infección, el tratamiento T2 tiene un mayor grado de efectividad en bovinos contaminados con VPB, se observa que el tratamiento T2 tiene un 81.64% de efectividad mientras que el T3 presento 54.9 %. Sin embargo, para reducir y eliminar el VPB es necesario realizar dos aplicaciones de la vacuna.

En la aplicación de la vacuna en el T1 como prevención, los animales presentaron un comportamiento normal después de la vacunación, no se observó intoxicación o alguna reacción negativa.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda la aplicación de la vacuna de manera preventiva y en una etapa temprana de la infección del virus para su mejor respuesta.

Un buen manejo nutricional, donde se incluya el balance adecuado de minerales puede prevenir la infección por BPV, se controla y/o se erradica la enfermedad.

Al no haber una respuesta a la vacuna es fundamental erradicar animales muy infectados y desinfectar áreas comunes que puedan ser fuente de contagio.

Animales que no presenten respuesta al tratamiento se recomienda sacarlos del hato para evitar la propagación del virus.

9. LITERATURA CITADA

- Araldi, P., Assaf, S., de Carvalho, R., de Carvalho, M. (2017). Papillomaviruses: a systematic review. *Genetics and Molecular Biology*, 40(1): 1-21.
- Araldi, R. P., Melo, T. C., Neves, A. C., Spadacci-Morena, D. D., Magnelli, R. F., Modolo, D. G, Stocco, R. C. (2015). Hyperproliferative action of bovine papillomavirus: Genetic and histopathological aspects. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 12942–12954. Disponible en : <https://doi.org/10.4238/2015.October.21.15>
- Bauermann, F., Joshi, L., Mohr, K., Kutish, G., Meier, P., Chase, C., Diel, D. (2017). A novel bovine papillomavirus type in the genus Dyokappapapillomavirus. *Files Virology*, 1:1-3.
- Bernard, H.-U., R. D. Burk, *et al.* (2010). "Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments." *Virology* 401(1): 70- 79.
- Bocaneti, F., Altamura, G., Corteggio, A., Velescu, E., Roperto, F., y Borzacchiello, G. (2016). Bovine Papillomavirus: New Insights into an Old Disease. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(1), 14–23. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tbed.12222>
- Börkücü, M., Atalay, O., Kibar, M., Cam, Y., y Atasever, A. (2007). Ivermectin is an effective treatment for bovine cutaneous papillomatosis. *Veterinary* 83, 360–363.
- Buck, C. B., Day, P. M., y Trus, B. L. (2013). The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology*, 445(1–2), 169–174. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.05.038>
- Campo, M Saveria. (2002). Animal models of papillomavirus pathogenesis. *Virus Research*, 89(2),249–261. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(02\)00193-4](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00193-4)
- Campo, M. Saveria, y Jarrett, W. F. H. (1986). Papillomavirus Infection in Cattle: Viral and Chemical Cofactors in Naturally Occurring and Experimentally Induced Tumours. In *Ciba Foundation symposium* (Vol. 120, pp. 117–135). Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9780470513309.ch9>

- Campo, M.S. (1997). Bovine papillomavirus and cancer. *The Veterinary Journal*, 154(3), 175–188. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(97\)80019-6](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(97)80019-6)
- Chandra, R. (1997). Nutrición y Sistema Inmunológico: Una introducción. *Soy J Clin Nutr.* 66(2). 460s-463S. doi: 10.1093 / ajcn / 66.2.460S. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9250133/>
- Charry Dávalos, J. V. y M. B. Hinojosa López (2011). Estudio de papilomatosis bovina en cinco propiedades de ganadería de leche, en cantón Pedro Vicente Maldonado en la provincia de Pichincha, Quito: Universidad de las Américas, 2011.
- Cubie, H. A. (2013). Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology*, 445(1–2), 21–34. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.007>
- Fava, C. Del, Okuda, L. H., Scarelli Vicente, M. E., de Souza Hunold Lara, M. do C. C., Cassaro Villalobos, E. M., Mori, E. Maristela Pituco, E. (2019). Bovine Papillomavirus Type 1 in Brains of Cattle with a Neurological Syndrome: Pathological and Molecular Study. *Journal of Carcinogenesis & 70 Mutagenesis*, 10(1). Disponible en: <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000330>
- Finlay, M., Yuan, Z., Burden, F., Trawford, A., Morgan, I. M., Saveria Campo, M., y Nasir, L. (2009). The detection of Bovine Papillomavirus type 1 DNA in flies. *Virus Research*, 144(1–2), 315–317. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.04.015>
- Franco, L., Rodrigues, V. y Augusto, M. (2007). Efecto del etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre y del lactobionato de cobre parenteral en el tratamiento de la papilomatosis cutánea bovina. *TIÉNcAPecu Méx* , 45(3): 289-297.
- García, J. (2017). Efecto de la suplementación de cobre, zinc y manganeso en el tratamiento de la papilomatosis cutánea bovina. *REDVET. Rev. Electrón. Vet.* Vol. 18. N°01. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63649684014.pdf>
- García-Vallvé, S., Alonso, A. y Bravo, I. G. (2005). Papillomaviruses: different genes have different histories. *Trends in Microbiology*, 13(11), 514–521. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.09.003>

- He, Z., Meng, Q., Qiao, J., Peng, Y., Xie, K., Liu, Y., Chen, C. (2016). Mixed Nipple Infections Caused by Variant of BPV3 and a Putative New Subtype of BPV in Cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(1), e140–e143. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tbed.12238>
- Jubb K. P., Palmer NC. (2007). *Pathology of the Domestic Animals*. Philadelphia, USA, Saunders-Elsevier.
- Karen J. Auborn, (1998). Papilomavirus, infection and Immunity. In *Enciclopedia of immunology* (second edition (1998)).
- Leto, M. das G. P., Santos Júnior, G. F. dos, Porro, A. M., y Tomimori, J. (2011). Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(2), 306–317. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000200014>
- Liu, Y., & Baleja, J. D. (2008). Structure and function of the papillomavirus E6 protein and its interacting proteins. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 13, 121–134. Disponible en: <https://doi.org/10.2741/2664>.
- Ljubojevic, S., & Skerlev, M. (2014). HPV-associated diseases. *Clinics in Dermatology*, 32(2), 227–234. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.08.007>
- Mayilkumar K., Kokila S., Prabhu M., y Gopal K. (2014). Formalin Inactivated Autogenous Vaccine for Treatment of Papillomatosis in Adult Dairy Cow. *Indian Veterinary Journal*. 91 (10): 13-15
- Melo, T. C., Araldi, R. P., Pessoa, N. S. D., de-Sá-júnior, P. L., Carvalho, R. F., Beçak, W., y Stocco, R. C. (2015). *Bos taurus* papillomavirus activity in peripheral blood mononuclear cells: Demonstrating a productive infection. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 16712–16727. Disponible en: <https://doi.org/10.4238/2015.December.11.19>.
- Monteiro, V., Coelho, M., Carneiro, A., Silva, R., Teixeira, M., Wanderley A. Franco, E. (2008). Descrição clínica e histopatológica da papilomatose cutânea bovina (BPV). *Ciênc Anim Bras*, 10, 550–560.
- Mufarrege, D. (2003). El cobre en la ganadería del NEA. E.E.A Mercedes. Noticias y Comentarios N°381. Producción Animal. Sitio Argentino. Argentina.

- Munday, J. S. (2014). Bovine and Human Papillomaviruses. *Veterinary Pathology*, 51(6), 1063–1075. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0300985814537837>.
- Özsoy, S., Özyildiz, Z., y Güzel, M. (2011). Clinical, pathological and immunohistochemical findings of bovine cutaneous papillomatosis. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58, 161–165.
- Pathania, S., Dhama, K., Saikumar, G., Shahi, S., & Somvanshi, R. (2012). Detection and Quantification of Bovine Papilloma Virus Type 2 (BPV-2) by Real-time PCR in Urine and Urinary Bladder Lesions in Enzootic Bovine Haematuria (EBH)-Affected Cows. *Transboundary and Emerging Diseases*, 59(1), 79–84. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01248.x>
- Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9 ed. vol. 2. España: McGraw-Hill interoamericana S.A. 1006p.
- Resendes, A. R., Roperto, S., Trapani, F., Urraro, C., Rodrigues, A., Roperto, F., & Borzacchiello, G. (2011). Association of bovine papillomavirus type 2 (BPV-2) and urinary bladder tumours in cattle from the Azores archipelago. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 526–529. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.02.001>
- Rodríguez, R., Guillermo, L., y Castro, J. (2015). Papilomatosis bovina en el trópico mexicano: presentación clínica y control. *Bioagrocencias*, 8(1), 45-52.
- Rojas, E., Cantú, A., Morales, J., y Loza, E. (2016). Detection and phylogenetic analysis of bovine papillomavirus in cutaneous warts in cattle in Tamaulipas, Mexico. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 80, 262-268.
- SIAP, (2022). Escenario mensual de productos agroalimentarios. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/784852/Carne_de_bovino_Noviembre.pdf
- Silva, M. A. R., Batista, M. V. A., Pontes, N. E., Santos, E. U. D., Coutinho, L. C. A., Castro, R. S., Freitas, A. C. (2013). Comparison of two PCR strategies for the detection of bovine papillomavirus. *Journal of Virological Methods*, 192(1–2), 55–58. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.04.017>

- Silva, M. A. R., Pontes, N. E., Da Silva, K. M. G., Guerra, M. M. P., & Freitas, A. C. (2011). Detection of bovine papillomavirus type 2 DNA in commercial frozen semen of bulls (*Bos taurus*). *Animal Reproduction Science*, 129(3–4), 146–151. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.11.005>
- Silva, M. A. R., Silva, E. C. B., Gurgel, A. P. A. D., Nascimento, K. C. G., y Freitas, A. C. (2014). Bovine papillomavirus E2 and E5 gene expression in sperm cells of healthy bulls. *Virus Disease*, 25(1), 125–128. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13337-013-0185-5>
- Torres, M., Sosa, O., Ortega, O., Lara, M., Báez, M., González A. (2016). Comparación de los efectos de la autovacuna, la autohemovacuna, y la terapia combinada en el tratamiento de la papilomatosis bovina. *Compend. Ciencia veterinaria*, 02, 36 – 41.
- Valencia, C., Payan, J., Appel, V., y Salazar, H. (2013). Valoración de la eficacia del cobre contra la papilomatosis bovina en el departamento del cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 208-224.
- Vázquez, R., Escudero, C., Doménech, A., Gómez-Lucía, E., Benítez, L. (2012). Papilomatosis bovina: epidemiología y diversidad de papilomavirus bovinos (BPV). *Revista complutense de ciencias veterinarias*, 2, 38-57.