

## Papilomatosis bovina en el trópico mexicano: presentación clínica y control

Roger Iván Rodríguez Vivas<sup>1</sup>, Leonardo Guillermo Cordero<sup>1</sup>, Edwin José Gutiérrez Ruiz<sup>1</sup>, María José Castro Cárdenas<sup>1</sup>, Maribel Ojeda Chi Melina, René Tzab Navarro<sup>2</sup>, José María Castro Marín<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Km 15.5 Carretera. Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México.<sup>2</sup>Centro de Desarrollo Tecnológico “Tantakin”, FIRA, Km. 4.5 carretera Tzucacab-Escondido, Tzucacab, Yucatán, México. rvivas@correo.uady.mx

### Resumen

Se estimó la prevalencia de Papilomatosis bovina (PB) en un hato bovino de Yucatán, México y se evaluó un programa de control mediante el uso de una auto-vacuna con estimulación del sistema inmune de los animales. Se encontró una prevalencia del 20% de PB (21/105). El examen clínico indicó que 47.6% de los animales presentó papilomas planos, 38.1% papilomas pedunculados y 14.3% ambos tipos de papilomas. En los 21 animales con PB, la cobertura de los papilomas fue en promedio 9.9% del cuerpo de los animales (rango de 3 al 35%). Cinco animales presentaron lesiones papilomatosas en más 20% del cuerpo. Se aplicó en una ocasión una auto-vacuna a 19 bovinos con lesiones papilomatosas más la aplicación de ivermectina al 1% (0.2mg/kg de peso vivo) vía subcutánea durante cinco ocasiones con un intervalo de 15 días entre aplicaciones. A los 90 días pos-tratamiento (autovacuna) se encontró una eficacia de 89.5% (17/19). La reducción en porciento de papilomas en el cuerpo de los animales fue 93.9%. Se concluye que la prevalencia de PB en un hato bovino de Yucatán, México es alta y el uso de una auto-vacuna e ivermectina como inmunoestimulante, constituye un control eficaz de esta patología de origen viral.

### Introducción

La Papilomatosis bovina (PB) es una enfermedad infectocontagiosa viral, crónica, de carácter tumoral benigno y de naturaleza fibroepitelial, caracterizada por la formación de tumores (papilomas o verrugas) piel y en las mucosas. Es causada por un virus ADN de doble cadena circular y simetría helicoidal (42 capsómeros, 50-60 nanómetro en diámetro) de la familia Papilomaviridae que se replica en el núcleo de las células epidérmicas (Catroxo *et al.* 2013). La PB presenta dificultades para su control debido a los diferentes tipos de virus que afectan a los bovinos, los cuales se han

tipificado en seis variantes: Tipo 1 y 2 que afecta cabeza, cuello, pene y mucosa vaginal; Tipo 3 variante que afecta la piel; Tipo 4 que afecta el tracto alimenticio y se ha asociado al consumo de he leche; Tipo 5 en forma de grano de arroz en los pezones y el Tipo 6 formas aplanadas en los pezones. Por otra parte los animales afectados presentan dificultad en la comercialización debido al aspecto desagradable y el deterioro de las pieles para ser utilizadas en la industria de la peletería (Jelínek y Tachezy 2005). Los papilomas crecen inicialmente lentamente en forma de nódulos; luego lo hacen rápidamente alcanzando dife-

rentes tamaños, y se van cornificando, adquiriendo diferentes formas como de coliflor, granos de arroz o pedunculados. Los nódulos generalmente se ulceran siendo invadidos por infecciones secundarias afectando la producción de leche y carne (Valencia *et al.* 2013).

Los papilomas son comunes en bovinos jóvenes, pero generalmente producen poco daño y pueden desaparecer espontáneamente. Sin embargo, los animales inmunocoprometidos pueden no ser capaces de eliminar la infección, se vuelve persistente y las lesiones se extienden en todo casi todo el cuerpo (Jelínek y Tachezy 2005, Vázquez-Díaz *et al.* 2012). La PB presenta dificultades en el control. Son múltiples los tratamientos que se han sugerido, pero la efectividad reportada de estos ha sido variable. La efectividad de tratamientos alternativos propuestos no ha sido valorada experimentalmente. Entre los tratamientos reconocidos para el control de la PB se encuentran: intervención quirúrgica, las vacunas autógenas preparadas con tejidos de verrugas del animal infectado, vacuna contra el virus de la enfermedad de Newcastle (Avki *et al.* 2004), diaceturato de diazoaminodibenzamida, auto-hemoterapia, inyección de preparados que contienen bismuto y antimonio, tratamientos homeopáticos con Thuja (Peña *et al.* 2005), ácido salicílico y látex de higuera (Hemmatzadeh *et al.* 2003), entre otros. Asimismo, los fármacos estimulantes del sistema inmune tales el levamisol y la ivermectina han sido utilizados exitosamente en el tratamiento de la PB (Börkú *et al.* 2007).

Aunque varios casos de PB han sido reportados en México en los últimos años, información sobre el diagnóstico y protocolos de tratamientos exitosos han sido reportados escasamente. El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de PB en un hato bovino de Yucatán, México, así como evaluar un programa de control mediante el uso de una auto-vacuna con estimulación del sistema inmune de los animales.

## Materiales y métodos

**Área de estudio.** El presente estudio se realizó de septiembre de 2014 a febrero de 2015, en un rancho bovino localizado en el trópico mexicano y en Yucatán, México (19° 30' y 21° 35' N; 90° 24' O). El clima es tropical sub-húmedo con lluvias en verano. La temperatura máxima varía de 35°C a 40°C (media 26.6°C). La humedad relativa varía de 65 a 100 % (media de 80 %) y la precipitación pluvial anual varía de 415 mm a 1290 mm dependiendo del área. Existen dos diferentes estaciones: lluvia (de junio a octubre) y seca (de noviembre a mayo) (INEGI 2002). Yucatán tiene 4629 ranchos con 624,488 cabezas de ganado. El sistema de producción predominante es el semi-intensivo (Ganado de carne), basado principalmente en sistemas de pastoreo en pastizales mejorados, ejemplo: zacate Guinea (*Panicum maximum*) y estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*), con suplementación alimenticia durante la época de seca.

**Antecedentes del rancho y los animales.** El rancho bovino tiene 227 ha divididas en 16 potreros. Cada potrero se encuentra dividido con cercas de alambres de púas de cuatro hilos. El rancho cuenta con un área de ordeño y cuenta además con instalaciones para el manejo tales como la vacunación, identificación, desparasitación. Los bovinos son explotados bajo un sistema semiintensivo con pastoreo nocturno en zacate Guinea (*Panicum maximum*), Brizantha (*Brachiaria brizantha*), Tanzania (*Megathyrus maximus*), king grass (*Pennisetum purpureum*) and zacate estrella africana (*Cynodon nlemfluensis*). Los animales reciben suplemento alimenticio comercial durante la época de lluvia. El rancho está rodeado de vegetación secundaria de una selva baja caducifolia en diferentes grados de crecimiento (Flores y Espejel 1994).

### **Antecedentes de la papilomatosis bovina.**

Las primeras manifestaciones clínicas de la PB iniciaron en el mes de enero de 2014 con la aparición de tres casos clínicos de Papilomatosis en tres bovinos. Las primeras manifestaciones aparecieron con pequeños nódulos que con el paso del tiempo crecieron de tamaño y se fueron cornificando, adquiriendo diferentes formas como de coliflor, granos de arroz o pedunculados. En algunos casos los nódulos se ulceraron y fueron invadidas por infecciones secundarias. Después tres meses de estrés alimenticio por la época de sequía, los casos PB se diseminaron en el hato hasta iniciar un programa de tratamiento para resolver los casos.

**Evaluación y descripción clínica de los animales afectados.** Todos los bovinos del rancho (105) fueron inspeccionados clínicamente de forma individual para determinar el número de animales afectados y el porcentaje de invasión por papilomas en el cuerpo de los animales. Se registró los tipos de papilomas (planos, pedunculados, mixtos) al día 0 del experimento y se tomó una muestra para histopatología con el fin de confirmar el diagnóstico clínico.

**Toma y procesamiento de muestras para estudios histopatológicos.** Para la toma de muestra de las lesiones papilomatosas se extrajeron de un bovino con lesiones. En la zona del papiloma se procedió a la asepsia con solución de yodo (25%). El papiloma fue disecionado con una pinza y la remoción con una tijera. El sangrado fue controlado por presión física con pinzas tipo mayo y posteriormente se agregaron 5 g de diacetato de aluminio para favorecer la cicatrización. Se recolectaron aproximadamente 3 cm<sup>3</sup> del papiloma, los cuales se depositaron en un frasco de plástico de boca ancha con formalina amortiguada al 10% y buferada a un pH 7.2, manteniendo la relación muestra fijador de 1:10; se etiquetó el frasco y se guardó por 24

h para su fijación. La muestra fue procesada mediante la técnica de inclusión en parafina y tinción con Hematoxilina-Eosina. Para ello, la muestra se deshidrató con diferentes soluciones consecutivas de alcohol etílico. Después se clarificaron con xilol y se impregnaron en parafina hasta enfriar. Una vez solidificada la parafina y formado el cubito se hicieron cortes seriados de 5µm de espesor, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y se montaron con resina sintética. Finalmente se procedió a la revisión de la muestra con ayuda de un microscopio óptico (Geneser 2003).

**Elaboración de la autovacuna.** Para la elaboración de la autovacuna se seleccionaron al azar 10 bovinos con diferentes niveles de invasión de papilomas. A cada animal se le extirpó una verruga con pinzas y bisturí estériles. Los papilomas fueron depositados en frascos estériles y transportados en condiciones de refrigeración hasta su llegada al laboratorio de virología de la FMVZ-UADY. Veinte gramos de papilomas fueron macerados con un mortero y pistilo con la adición de 100 ml de formalina al 0.2%. El macerado se dejó reposar por 24 h a 4 °C. Posteriormente fue centrifugado durante 10 minutos a 1,000 rpm. El sobrenadante fue retirado y usado como autovacuna (1 ml por dosis vía subcutánea/animal).

**Esquema de vacunación y estimulación del sistema inmune de los animales.** Diecinueve animales positivos clínicamente a papilomas recibieron 1 ml de la autovacuna aplicada vía subcutánea en el cuello por una sola aplicación. Asimismo cada bovino recibió 800,000 U.I. de penicilina + 250mg de estreptomycinina vía intramuscular. Para estimular el sistema inmune, los animales positivos a papilomas recibieron por vía subcutánea 0.2mg/kg de p.v. de ivermectina al 1% durante cinco ocasiones con un intervalo de 15 días entre aplicaciones de acuerdo a la metodología descrita por Börkü *et al.* (2007). Dos animales

con papilomas no recibieron tratamiento alguno y fungieron como grupo control. A los 90 días post-aplicación de la autovacuna todos los bovinos del rancho fueron nuevamente inspeccionados clínicamente de forma individual para determinar el número de animales afectados y el porcentaje de invasión por papilomas en el cuerpo de los animales.

#### **Evaluación de la eficacia del tratamiento.**

Se evaluó clínicamente a los bovinos los días 30, 45 y 90 post-tratamiento para conocer posibles efectos secundarios de la auto-vacuna. Al día 90 post-tratamiento se registró el número de animales con papilomas y fue calculado el porcentaje de cobertura en su cuerpo. Se tomaron fotografías de los animales para documentar el progreso de los papilomas. La respuesta al tratamiento fue considerada como excelente si ocurrió una regresión del 85% o más del número de papilomas;

buena, con regresión entre 75 a 84%; regular, con regresión entre 65 a 74%; mala, con regresión inferior a 65%. El tratamiento fue considerado eficaz cuando la respuesta de los bovinos fue entre buena y excelente, e ineficaz si la respuesta fue de regular a mala (Santín y Brito 2004).

#### **Resultados**

De los 105 animales, 21 animales resultaron positivos a papilomas, representando una prevalencia de 20%. El examen clínico indicó que 47.6% de los animales presentaba papilomas planos, 38.1% papilomas pedunculados (Figura 1) y 14.3% ambos tipos de papilomas. De los 21 animales con papilomas, la cobertura de los papilomas fue de 9.9% del cuerpo de los animales (rango de 3 al 35%) (Figura 2). Cinco animales presentaron lesiones papilomatosas en más del 20% del cuerpo.



Figura 1. Papilomas pedunculados similares a la forma de “coliflor” en dos bovinos de un hato del trópico mexicano.



Figura 2. Bovino de un hato del trópico mexicano con papilomas en un 25% de su cuerpo.

En la revisión histológica del papiloma se apreció la proliferación de células del estrato basal, espinoso y granular con núcleos ovals hipercromáticos y nucléolos prominentes, con la presencia de células con degeneración balanoide hinchadas, con el citoplasma claro, el núcleo desplazado a la periferia y la presencia de un halo claro perinuclear, dichas células se encontraban en cantidad importante con un patrón pseudopapilar exofítico (Figura 3). En la dermis se apreció fibroplasia severa difusa.

Noventa días después de la aplicación de la autovacuna más la estimulación del sistema inmune con ivermectina, se observó que 17 animales no presentaban papilomas, lo que indica una eficacia del 89.5% (17/19). La reducción en porcentaje de papilomas en el cuerpo de los animales fue de 93.9% (0.6% vs. 9.9%) (Figura 4). Los dos bovinos del grupo control continuaron con papilomas a los 90 días de la inspección, sin reducción en el porcentaje de papilomas en sus cuerpos. No se observó signos clínicos colaterales por efecto

de la inoculación de la autovacuna durante el tiempo que duró el estudio. La expresión de la infección con el virus de la PB requiere la presencia del agente en el ambiente, así como la existencia de lesiones superficiales de piel o mucosas (Dirkson *et al.* 2005). El modo de propagación es por contacto directo con animales afectados y la penetración del agente viral en la piel a través de las abrasiones cutáneas. El virus puede también mantenerse vivo en las cercas de los corrales y ocasionar la infección cuando los animales se frotan contra las cercas (Radostits *et al.* 2002). Los bovinos afectados en forma subclínica y portadores del virus, así como los portadores inanimados y animados, juegan un papel decisivo (Dirkson *et al.* 2005). Asimismo, el desbalance nutricional, hormonal y depresión del sistema inmune tienen un rol importante en la duración de la enfermedad. Se ha relacionado el estrés como posible desencadenante de la enfermedad, causado por instalaciones inadecuadas o desnutrición.

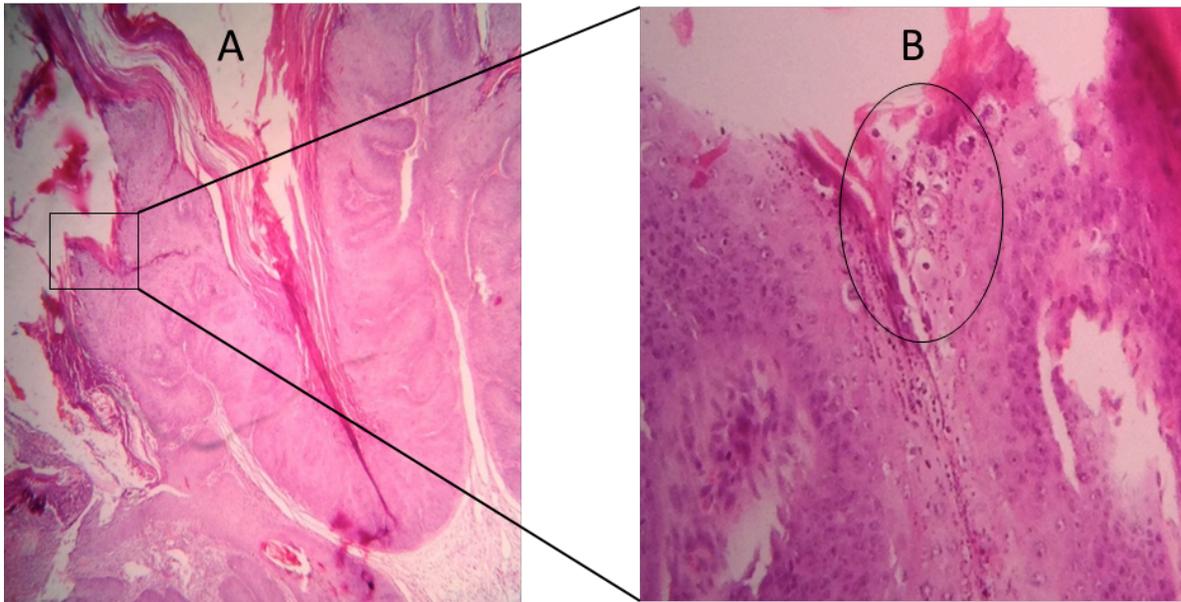


Figura 3. Proliferación de células del estrato basal, espinoso y granular en un patrón pseudopapilar exofítico (A). Células con degeneración balanoide hinchadas, con el citoplasma claro, el núcleo desplazado a la periferia y la presencia de un halo claro perinuclear (señaladas con un óvalo) (B).



Figura 4. Bovino (identificación 0491) con papilomas antes (A) y 90 días después (B) de la aplicación de una autovacuna más la estimulación del sistema inmune a través del uso de ivermectina a razón de 0.2 mg/kg de peso vivo.

## Discusión

Los animales con lesiones extensas pueden sufrir alteraciones en el estado general, pudiendo producirse además la infección bacteriana secundaria de las verrugas, así como invasiones producidas por insectos que pueden producir miasis, que complican el cuadro. Los papilomas en los pezones y las ubres de las vacas pueden dificultar el ordeño, pero además la infección puede extenderse a lo largo del perineo y la parte inferior del cuerpo y si ocurre una distorsión de los conductos de la leche y una mastitis, los terneros pueden ser incapaces de mamar de forma correcta. Cuando los fibropapilomas se localizan en las pezuñas en el espacio interdigital, cojinetes y talones, son dolorosos y pueden provocar desde cojeras hasta postración (Borzacchiello y Roperto 2008). En el presente estudio 20% (21/105) de los bovinos del hato presentaban papilomas y de estos cinco animales tenían lesiones en más de 20% del cuerpo, ocasionando problemas de cojeras, lesiones de las ubres que provocaban dificultad en el amantamiento de sus becerros.

Los resultados del estudio histopatológico del papiloma indican que el crecimiento tumoral observado es compatible con una infección por Papilomavirus. La presencia de células del estrato basal, espinoso y granular con las características descritas y la presencia de fibroplasia severa difusa indican que el tumor fue de origen viral compatible con Papilomavirus (Araldi *et al.* 2014). En el presente estudio la aplicación de la autovacuna y la estimulación del sistema inmune con aplicaciones de ivermectina al 1%, presentó una res-

puesta excelente (Santin y Brito 2004) ya que el 89.5% de los animales con papilomas se recuperaron completamente de las lesiones, es de considerar que solamente se aplicó una vez la autovacuna y que la aplicación de un refuerzo a los treinta días probablemente produzca una mayor eficacia debido a la mejor estimulación de la respuesta inmune. Asimismo, se redujo el 93.9% de papilomas en el cuerpo de los animales.

Es conocido que el sistema inmune juega un papel importante en la modulación de la severidad de los papilomas. Se sugiere que la regresión de las lesiones están probablemente afectadas por el sistema inmune celular, más que el sistema inmune humoral (Nicholls y Stanley 2000). La ivermectina estimula tanto el sistema inmune celular como humoral (Blakley y Rousseaux 1991). La excelente eficacia obtenida, indica que los animales tratados desarrollaron eficientemente un sistema de defensa capaz de reducir los papilomas y restablecer su condición de salud.

## Conclusión

Se concluye que la prevalencia de PB en un hato bovino de Yucatán, México es alta y el uso de una auto-vacuna preparada a partir de la lesión papilomatosa, con previa estimulación del sistema inmune mediante el uso de ivermectina al 1%, constituye un control eficaz de esta enfermedad viral.

## Agradecimientos

El estudio forma parte del proyecto con registro FMVZ-2012-0006.

## Referencias

Araldi RP, Carvalho RF, Melo TC, Diniz NSP, Sant' Ana TA, Mazzuchelli-de-Souza J, Spadacci-Morena DD, Becak W, Stocco RC. 2014. Bovine papillomavirus in beef cattle: first description of BPV-12 and pu-

tative type BAPV8 in Brazil. *Genetic Molecular Research*. 13(3): 5644-5653.

Avki S, Turutoglu H, Simsek A y Unsal A. 2004. Clinical and immunological effects of Newcastle disease virus vaccine on bovine papillomatosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 98: 9-16.

- Blakley BR y Rousseaux CG. 1991. Effect of ivermectin on the immune response in mice. *American Journal of Veterinary Research*. 52: 593-595.
- Börkükü MK, Atalay O, Kibar M, Cam Y y Ata-sever A. 2007. Ivermectin is an effective treatment for bovine cutaneous papillomatosis. *Research in Veterinary Science*. 83(3): 360-363.
- Borzacchiello G y Roperto F. 2008. Bovine papillomaviruses, papillomas and cancer in cattle. *Veterinary Research*. 39:45.
- Catroxo MHB, Martins AMC, Petrella S, Souza F y Nastari BDB. 2013. Ultrastructural study of bovine papillomavirus during outbreaks in Brazil. *International Journal of Morphology*. 31(2): 777-784.
- Dirkson G, Grunder HD y Stober M. 2005. *Medicina interna y cirugía del bovino*. 4ª ed. Vol 1. Argentina: Ed Intermédica. p. 632.
- Flores S y Espejel I. 1994. Tipos de Vegetación de la Península de Yucatán Etnoflora Yucatanense. Fascículo 3 Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida.
- Generser, F. 2003. *Histología*. 3era edición. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España. pp. 31-47.
- Hemmatzadeh F, Fatemi A y Amini F. 2003. Therapeutic effects of fig tree latex on bovine papillomatosis. *Journal of Veterinary Medicine, B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 50(10): 473-476.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática (INEGI) (2002). *Anuario estadístico del Estado de Yucatán, México*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática, México.
- Jelínek F y Tachezy R. 2005. Cutaneous papillomatosis in cattle. *Journal of Comparative Pathology*. 132: 70-81.
- Nicholls PK y Stanley MA. 2000. The immunology of animal papillomaviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 73: 101-127.
- Peña F, Marín A, Camacho A, Avello E, Arce MA y Perez CG. 2005. Thuja (200 ch, 1000ch) en el tratamiento de la papilomatosis bovina. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. 5(06): 1-6.
- Radostits O, Gay C, Blood D y Hinchcliff K. 2002. *Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9ª ed. Vol 2. España: McGraw-Hill Interoamericana. p. 1006.
- Santin API y Brito LAB. 2004. Estudio de la papilomatosis cutánea en bovinos lecheros: Comparación de diferentes tratamientos. *Ciencia Animal Brasileira*. 5(1): 39-45.
- Valencia HCE, Payan MJ, Appel UVA y Salazar AH. 2013. Valoración de la eficacia del cobre contra la papilomatosis bovina en el departamento del cauca. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 11 (1): 218-224.
- Vázquez-Díaz R, Escudero-Duch C, Doménech-Gómez A, Gómez-Lucía DE y Benítez-Rico L. 2012. Papilomatosis bovina: epidemiología y diversidad de papillomavirus bovinos (BPV). *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 6(2): 38-57.