

**“Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú”**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE DIOS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE CUATRO TRATAMIENTOS  
PARA LA PAPILOMATOSIS BOVINA EN EL DISTRITO DE TAMBOPATA,  
MADRE DE DIOS 2016”**

**Tesista:** Jerzy Figueroa Livano

Para optar el Título Profesional de: **Médico Veterinario y Zootecnista**

**PUERTO MALDONADO – PERÚ**

**2016**

**“Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú”**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE DIOS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE CUATRO TRATAMIENTOS  
PARA LA PAPILOMATOSIS BOVINA EN EL DISTRITO DE TAMBOPATA,  
MADRE DE DIOS 2016”**

**Tesista: Jerzy Figueroa Livano**

Para optar el Título Profesional de: **Médico Veterinario y Zootecnista**

**PUERTO MALDONADO – PERÚ**

**2016**

## DEDICATORIA

Al Dios padre, Por permitirme llegar hasta este punto, por brindarme salud, solvencia, su infinita bondad y amor, para lograr mis objetivos.

A mi padre que desde el cielo me ilumina y protege, Sr. Mario S. Figueroa Guevara, y a mi madre; Brígida Livano Chacón, por todo el esfuerzo, amor que dio para educarme y protegerme.

Al Sr. German Vargas Loayza. A mis hermanos; Harvey, Danny, Flor Karen, Rayza Trixia, por compartir momentos de felicidad, tristeza.

A mis abuelos Néstor Livano Velasco, Elena Chacón Moscoso, Víctor Figueroa Carazas, Filomena Guevara Alvares, En especial a mi abuelo Néstor por sus enseñanzas y el apoyo moral que me brindo.

A mis tíos Mario, Fredy, Cesar, Nilo, Rogelia, Sabina, Jesús, por acogerme y el apoyo incondicional que me brindaron.

A mis amigos; Venancio, Roberto, Guido, Justo, Yancarlos, Johan, Víctor Raúl, Deyvis, Roger, Cesar, Cayo, Douglas, Estefano, Elmo, Vanesa, Sandra, Casilda, María, Roxana, Carmen Julia, Más allá del estudio y velar por una universidad justa; fue una amistad sincera.

## **AGRADECIMIENTO:**

A la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAMAD

A Mis asesores de tesis M.V.Z. Miguel García Toro, Mc. Jimmy Flores Mendoza, por brindarme apoyo incondicional en un marco de confianza, afecto, para concretarse este estudio.

A mis docentes: Julio Cárdenas Huamán, Vadik Fernández Romero, Manuel Delgado Bernal, Percy Cancha Huillca, Ricardo García Núñez, Jesús A. Titi Pacosonco, Miguel Hernández Guerra, Reynaldo Achata, Fanny V. Lizaraso, Marco Mercado Apaza, Boris Dueñas Fernández, Denis Llana López, Carmen Chaico Cahuana.

Al Vicerrectorado de investigación, entidad que financio el presente estudio a raíz de un concurso público.

A mis compañeros Roberto Lope, Yuri Chuptaya, Rodrigo Espinoza, Clivet Cárdenas, Diego Rolin, Beltrán Casapino, por el apoyo brindado durante la ejecución.

Al fundo Virgen de Chapi, por ofrecer las facilidades y permitirme acceder a sus ganaderías para realizar el presente proyecto de investigación.

Y con admiración y un profundo respeto a mis jurados de tesis:

MVZ. MANUEL J. DELGADO BERNAL.

Mc. JESUS A. TITI PACCOSONCO.

Dra. ROXANA MADUEÑO

MVZ. CARMEN CHAICO CAHUANA.

Es quienes expongo esta tesis con el agradecimiento de impartirme sus conocimientos durante mi formación profesional.

## **PRESENTACIÓN**

La presente tesis está vinculada al tratamiento de la Papilomatosis Bovina en la producción ganadera tropical, ya que en la selva peruana la ganadería es vulnerable a la propagación de parásitos y enfermedades emergentes, es así que la presencia de verrugas se hace más recurrente en fundos ganaderos del distrito de Tambopata, región Madre de Dios. La Papilomatosis Bovina desarrolla resistencia genéticamente según al cambio climático y según al fármaco que usualmente es utilizado; va cobrando su importancia en climas tropicales, generando permanencia y agravando su control. Mediante los tratamientos evaluados en esta investigación (Autovacunas, Hemovacunas y Clorobutanol), se determinó la efectividad terapéutica como una alternativa para disminuir la proliferación de la Papilomatosis Bovina en los fundos ganaderos del Distrito de Tambopata.

El autor.

## INDICE

RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA: .....	11
OBJETIVOS:.....	12
HIPÓTESIS PLANTEADA. ....	12

### CAPITULO I

MARCO TEÓRICO: .....	13
1.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIOS REALIZADOS:.....	13
1.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES:.....	15
1.2.1 PAPILOMATOSIS:.....	15
1.2.1.1 Definición:.....	15
1.2.1.2 Etiología: .....	16
1.2.2 PAPILOMATOSIS BOVINA: .....	21
1.2.2.1 Papilomavirus Bovino: .....	21
1.2.2.2 Epidemiología: .....	22
1.2.2.3 Patogenia: .....	24
1.2.2.4 Patología Clínica: .....	25
1.2.2.4 Diagnóstico:.....	26
1.2.3 FACTORES DE RIESGO: .....	27
1.2.3.1. Edad:.....	27
1.2.3.2 Parásitos: .....	27
1.2.4 TIPOS DE TRATAMIENTO .....	28
1.2.4.1 Clorobutanol:.....	28
1.2.4.2 Autohemoterapia: .....	29
1.2.4.3 Autovacunas: .....	29
1.2.5 IMPORTANCIA DE LA PAPILOMATOSIS: .....	30
1.2.6 INMUNIDAD:.....	32

### CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS.....	39
2.1. ÁMBITO DE ESTUDIO:.....	39

2.2. MATERIALES, EQUIPOS: .....	39
2.3. METODOLOGIA: .....	40
2.3.3 Toma de muestras para histopatología: .....	41
2.3.4. Descripción de los tratamientos evaluados: .....	41
2.4 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS: .....	42

### CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	45
3.1. EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS: .....	45
3.2 EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS. ....	51
3.3. RESULTADO DE COSTOS: .....	57
CONCLUSIONES: .....	58
RECOMENDACIONES .....	59
BIBLIOGRAFÍA .....	60
ANEXOS: .....	64

## RESUMEN

Con el objetivo de obtener un tratamiento alternativo para la Papilomatosis Bovina en la provincia de Tambopata – Madre de Dios; se evaluó la acción terapéutica de tres tratamientos + un testigo en el fundo ganadero Virgen de Chapi, ubicado en el km 12 (carretera interoceánica Puerto Maldonado - Cusco). Se trabajó un lote de 20 bovinos de diferentes edades, raza, sexo, infectados con Papilomatosis B. Se estableció grupos de 4 conformados en 5 Bovinos asignando un esquema de tratamiento clasificados de la siguiente forma: Tratamiento I; preparación y aplicación de Autovacunas (5 ml/50 kg pv.), Tratamiento II; Autohemoterapia (extracción y aplicación sanguínea, 5ml/ 50 kg pv), tratamiento III; Clorobutanol (5 ml/50 kg pv), tratamiento IV; testigo (aplicación de suero fisiológico). Se evaluó el comportamiento de la efectividad de los tratamientos mediante la pérdida de papilomas durante los días 15, 30 y 60. Para comparar la diferencia significativa de los tratamientos se estableció el diseño completo aleatorio (DCA) utilizando el Análisis de Varianza más la prueba de Tukey respectivamente, para determinar y rechazar la hipótesis nula se halló mediante la Prueba de Chi Cuadrado. Se evaluó también el análisis histopatológico en tejidos con papilomas. Los resultados demostraron una efectividad global del 97% en el grupo con autovacunas (T1), 92% en el grupo con Clorobutanol (T3), 78 % en Autohemoterapia (T2), en el testigo (T4) no dieron ningún efecto positivo. Según los resultados en el análisis de varianza muestra que hubo diferencia altamente significativa ( $p > 0.001$ ), y en la prueba Tukey se detalla que los T1 y T3 fueron homogéneos y tuvieron mayor efectividad que el T2 con diferencias altamente significativas ( $p > 0.001$ ). Histopatológicamente se observó la proliferación de células neoplásicas del estrato basal del epitelio, con núcleos ovals hiper cromáticos y citoplasma claro, después de la aplicación de los tratamientos en el día 60; hubo regresión positiva del epitelio de la epidermis en tratamientos con autovacuina, clorobutanol y Autohemoterapia. Se concluye; las autovacunas y clorobutanol son tratamientos eficientes, estadísticamente son iguales ( $P > 0.001$ ) y tienen mayor efectividad que el tratamiento con Hemovacunas. Se recomienda el uso de autovacunas por el menor costo y mayor efectividad que los otros tratamientos.

**Palabras claves:** Autovacunas, Efectividad, Hemovacunas, Histopatología Papilomatosis,



## AXTRACT

With the objective of obtaining an alternative treatment for Bovine Papillomatosis in the province of Tambopata - Madre de Dios, the therapeutic action of three treatments + a control was evaluated in the Virgen de Chapi cattle ranch, located at Km 12 (Interoceanic Highway Maldonado Cusco). A batch of 20 cattle of different ages, race, sex, naturally affected with PAPILOMATOSIS, was established, 4 groups were formed of 5 animals assigned a treatment scheme classified as follows: Treatment I, preparation and application of Autovaccines (5 ml / 50 kg pv), treatment II, Autohemotherapy (extraction and blood application, 5ml / 50 kg pv), Treatment III, Chlorobutanol (5ml / 50kg pv) IV treatment, control (application of saline solution). The behavior of the treatments was assessed by measuring the loss of papillomas during days 15, 30 and 60. To compare the significant differences between the treatments, a complete randomized design (DCA) was established using the Analysis of Variance and the test of Tukey, respectively, to determine and reject the null hypothesis was found by mediating the Chi square test. Histopathological analysis was also evaluated in tissues with papillomas. The results showed an overall effectiveness of 97% in the autovaccination (T1) group, 92% in the group with Chlorobutanol (T3), 78% in autohemoterapi (T2), and in the control group (T4). According to these results in the analysis of variance shows that there were highly significant differences ( $p > 0.001$ ), respectively in the Tukey test it was detailed that T1 and T3 were homogeneous and had greater effectiveness than T2 with highly significant differences ( $p > 0.001$ ). Histopathologically, the proliferation of neoplastic cells from the epithelium basal stage was observed, with hypercromative oval nuclei and clear cytoplasm, after the application of the treatments on day 60, there was positive regression of the epithelium of the epidermis in autovaccine, chlorobutanol and autohemotherapy. It is concluded that autovaccines and chlorobutanol are efficient treatments, statistically the same ( $p > 0.001$ ) and have more effectiveness than treatment with hemovaccines. The use of autovaccines is recommended for the lower cost and more effectiveness than other treatments.

**Keywords:** Autovaccines. Effectiveness, Hemovaccine, Histopathology, Papillomatosis.

## INTRODUCCIÓN

La población total bovina en la selva peruana se concentra en 768, 800 cabezas, que representa el 14.9 % del total a nivel nacional, (INEI, Censo Nacional Agropecuario 2012).

La población de ganado bovino en la región de Madre de Dios es de 50, 145 cabezas, representados por 25, 411 de ganados criollos, 9, 172 Gyr/cebuinos, 4, 908 Holsten, 3, 739 Browns Zuis y 6, 725 de otras razas en promedio, (INEI, Censo Nacional Agropecuario 2012).

La ganadería enfrenta grandes problemas en su desarrollo, siendo los obstáculos más agravantes la falta de alimento en la época seca y la incidencia de enfermedades transmisibles que requieren de una inmediata acción de lucha, además existe la necesidad de establecer medidas restrictivas para evitar la introducción de otras enfermedades dañinas para la economía, (Down N. *et al.*, 2008).

Es frecuente la presencia de la Papilomatosis Bovina en las áreas de producción; esta enfermedad es causada por un virus fibroepitelial que se caracteriza por alterar la estructura histológica de la dermis y mucosas, el virus infecta principalmente en las células basales del epitelio originando neoplasias benignas. Esta patología ocasiona pérdidas económicas en la producción provocando problema de fertilidad, desarrollo retardado, impide una adecuada conversión de los alimentos, desvalorización del cuero, por consiguiente disminución en su valor de venta, (Da Silva L. *et al.*, 2004; Batista P. 2002).

Los ganaderos se ven en la obligación de practicar métodos empíricos, técnicas que no tienen éxito para erradicación de la enfermedad. La atención desinteresada a la papilomatosis a generando un gran riesgo en el control, ya que cada vez toma mayor fuerza, que puede llegar a convertirse en epidemia, (Rodríguez R. *et al* 2015; Down N. *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta que en la producción bovina hay presencia de Papilomatosis y existen propuestas de diferentes autores sobre su tratamiento (Puri O. *et al.*, 2009); La presente investigación ha determinado la eficacia de tres tratamientos para el control de la Papilomatosis Bovina dentro del distrito.

## FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

La Papilomatosis Bovina es una de las enfermedades muy común en el trópico, en el Perú presenta el 16 % de prevalencia, que se incrementa anualmente; preferentemente ataca al ganado con propósito lechero los más susceptibles de las razas son Holstein, Girolando (Holstein x Gyr). Se observa cuando hay mayores genes de Holstein el problema se incrementa (Puri O. *et al.*, 2009).

Esta enfermedad afecta por temporadas, cuando esta se presenta se propaga y se disemina rápidamente en la comunidad, induciendo a los productores a la utilización de métodos empíricos y en algunos casos se muestra una falta de acciones de manejo, a esto se suma el poco conocimiento que tienen en relación a la diseminación de síntomas y control de la enfermedad, (Zelaya A. *et al.*, 2007).

Un animal con papilomatosis hace que su crecimiento sea retardado, hay reducción en el peso corporal, disminuye la calidad del cuero, hay incremento de estrés y provoca inmunosupresión por lo que hay tendencia a sufrir otras enfermedades, incluso puede haber muerte si no son tratados a tiempo, (Montaño P. *et al.*, 2006).

Se reportaron protocolos empíricos para el control y tratamiento de la Papilomatosis en climas tropicales del país, compuestos químicos como el Clorobutanol, Formaldehido, vinagre, Ácido Salicílico, Ácido Sulfúrico, lejía, Kerosene, Yodo, Cloranfenicol, clorhidrato de Levamisol, Diaceturato, Diaminazene, o métodos físicos como quemaduras con fuego, la extirpación de verrugas, etc, todos con resultados no eficaces y criticados (Puri O. *et al.*, 2009).

Son diversos los tratamientos que se practican, pero se reporta que la efectividad resulta negativo, es más, la efectividad de los tratamientos tradicionales propuestos no ha sido estudiado científicamente (Valencia C. *et al.*, 2013).

Esta falta de efectividad de tratamientos, el productor de bovinos se ve en la obligación de sacrificar animales de alto valor genético, llevando plenamente a la búsqueda de un protocolo de tratamiento más eficiente, (Da Silva L. *et al.*, 2004).

**Pregunta:** ¿Cuál es el protocolo de tratamiento más eficaz para el control de la Papilomatosis Bovina en el distrito de Tambopata?

**OBJETIVOS:****Objetivo General:**

- Determinar la efectividad de cuatro tratamientos para la Papilomatosis Bovina en el distrito de Tambopata - Madre de Dios.

**Objetivos específicos:**

- Evaluar la efectividad de tratamientos con Autovacunas, Hemovacuna, Clorobutanol y un testigo.
- Comparar la morfología histopatológica de tejidos con Papilomatosis Bovina, antes y después de la aplicación de los tratamientos.
- Determinar el análisis económico de los tratamientos utilizados en el presente estudio.

**HIPÓTESIS PLANTEADA.**

**H<sub>a</sub>**= La eficacia depende de los tratamientos utilizados para la Papilomatosis Bovina en el presente estudio.

**H<sub>0</sub>**= La eficacia es independiente en la Papilomatosis Bovina, no existe efectividad de los tratamientos utilizados.

## CAPITULO I

### MARCO TEÓRICO:

#### 1.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIOS REALIZADOS:

El virus del papiloma animal fue identificado por primera vez en la década de los años 30 por Richar Shope. A partir de allí se aislaron y clasificados a nivel molecular 68 tipos del virus en mamíferos, 3 en reptiles, 3 en aves, en los humanos se identificaron más de 150 genotipos (Bernard H. *et al.*, 2010).

La Papilomatosis Bovina se origina por la infestación del Virus del Papiloma B. (BPV), que pertenece la familia *Papillomaviridae*, caracterizada por ser virus desnudos. Se han descubierto en la orina, semen, leche, sangre. Poseen diversos subtipos virales, reconociéndose 13 tipos hasta el momento. Aunque principalmente se estudiaron 6 en ganado vacuno, algunos genotipos como el BPV-1 y BPV2 se han asociado al desarrollo de papilomas en cebras, búfalos, jirafas y yaks. Se han relacionado asimismo con el desarrollo de tumores en tracto gastrointestinal y cáncer de vejiga urinaria en ganado bovino y con sarcoides equinos. Los Papilomavirus son agentes cosmopolitas y todos presentan las mismas prevalencias (Vásquez R. *et al.*, 2012).

Los últimos estudios sobre el virus del papiloma bovino se menciona que tiene un grupo diverso de ADN y fue encontrado en el semen de toros, gracias a un estudio de diagnóstico con la utilización del PCR, mediante la extracción de muestras en fluidos corporales (Silva M. *et al.*, 2013).

Estudios realizados en San Martín (Peru) con objetivos de evaluar la efectividad de una vacuna atenuada a través del virus de la enfermedad de Newcastle cepa La Sota (NDV-LS), estudiados en 34 vacas criollas en producción de leche infectados con Papilomatosis, diagnosticada clínicamente, con crianza semiextensiva en las fincas de Alto Mayo. Resulta que el tratamiento a través de la vacuna atenuada con virus de la enfermedad de Newcastle cepa “la Sota”, no fueron eficaz en el control de la Papilomatosis Bovina (Puri O. *et al.*, 2009).

En Nicaragua similar al estudio de Puri, se desarrolló la efectividad de dos tratamientos terapéuticos en el control de papilomatosis bovina en terneros, Los tratamientos eran con Autovauna en una dosis de 5 ml vía subcutánea con repetición a los 7 días y New Castle Cepa

la Sota con una dosis de 2 ml vía subcutánea repetidas a los 7 días. La recopilación de datos fue a base de conteos de papilomas a los 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días post primera aplicación de los tratamientos. Se concluye que los dos grupos de tratamientos reaccionaron positivamente en la pérdida de papilomas demostrando la efectividad de los tratamientos, y al realizar la prueba de Student no hubo diferencia significativa, esto indica que ambos tratamientos tienen la misma efectividad en la recuperación de los animales en estudio (Cerdeira S. *et al* 2015).

En Colombia, se realizó estudios con el objetivo de determinar la efectividad del arete de cobre como alternativa frente al control de la Papilomatosis en Bovinos hembras criollas de doble propósito, con presencia de Papilomatosis. Se comparó con tratamientos de autovacuna y diacetato de Diazoaminodibenzamidina al 7%. Los resultados mostraron eficacia en tratamientos con el arete de cobre, generando una reducción de papilomas; sin embargo, en el análisis estadístico no hubo diferencias significativa entre los cuatro tratamientos, (Valencia C. *et al.*, 2013).

En Nicaragua, se evaluó la suministración de autovacunas, haciendo comparaciones con el clorobutanol 25 % y la aplicación de los tratamientos en una sola dosis. Inicio con la desaparición de las verrugas a partir del día 17 en lo adelante, siendo significativo los mayores efectos de recuperación en aquellas lesiones de mayor talla. A los 90 días de haber aplicado los tratamientos se encontraban todos los animales recuperados, en los efectos no se encontró las diferencias significativas. También se concluye que no es necesario repetir la dosis de autovacuna porque con una sola dosis realiza el mismo efecto de recuperación, (Downs N. *et al.*, 2008).

En Argentina, provincia de Olguín; se realizó experimentos en 60 animales mestizos de Holstein-Cebú, enfermos de Papilomatosis, de ambos sexos y en edades comprendidas entre 8 y 14 meses; se formaron 4 grupos de 10 animales cada uno y se le aplicó una terapia con autovacuna en dosis de 10 y 20 ml subcutáneo, con previa estimulación del sistema inmune con Levamisol a dos grupos; los restantes animales se le aplicó idéntico esquema de tratamiento, pero con un Nosodes Homeopático. Se desarrolló con la finalidad de evaluar su efectividad de ambas terapias con y sin inmunoestimulante. La autovacuna preparada a partir de la lesión papilomatosa, con previa estimulación del sistema inmune, constituye un tratamiento eficaz para la Papilomatosis Viral Bovina observándose un 85% de recuperación, siendo la dosis más indicada 10 ml, (Zaldivar Q. *et al.*, 2014).

En la provincia de Andrés Ibáñez del departamento de Santa Cruz, en Bolivia: se evaluó la efectividad para el control de la Papilomatosis con los siguientes tratamientos: T I; autovacunas mas S.R.E. y vit. ADE, T II; tratamiento homeopático más vit. ADE, T III; Clorobutanol más Hemovacuna y vit. ADE, en animales de diferentes razas, sexo, edad afectados con presencia natural de Papilomatosis, en 48 animales como tamaño de muestra, de los cuales 19 (39,6%) lograron una recuperación eficaz. Mostrando diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en relación de animales curados por tratamiento siendo las autovacunas y el clorobutanol, tratamientos más efectivos. Los terneros (menores a 12 meses) reaccionaron eficazmente a los tratamientos en comparación a los animales adultos (mayores a 12 meses), (Montaño P. *et al.*, 2006).

## **1.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES:**

### **1.2.1 PAPILOMATOSIS:**

**1.2.1.1 Definición:** La terminación de papiloma etimológicamente proviene del latín “*papila*” que significa pústulas y del sufijo “*oma*” que significa tumor. La Papilomatosis es una enfermedad neoplásica benigna, originada por un agente viral con características fibroepiteliales por caracterizarse en alterar la epidermis y mucosas. La infestación viral se da principalmente en las células del estrato basal en el epitelio, originando proyecciones digitiformes microscópicas o macroscópicas (Da Silva L. *et al.*, 2004).

La Papilomatosis es una enfermedad infecciosa de especie específico, por clasificación del virus afecta en casi todas las especies, principalmente en los caprinos, equinos, porcinos, ovinos, aves, etc. Principalmente se caracteriza por la existencia de verrugas en el epitelio dermico y mucosas, estas pueden estar unidos o agrupados en racimos carnosos y dispercionados. Esta enfermedad no es zoonotica por la especificidad del virus para cada especie, por ejemplo el hombre puede sufrir de Papilomatosis por el virus del Papilomavirus Humano, (Cano J. 2002).

**1.2.1.2 Etiología:** El virus de la Papilomatosis se denomina Papilomavirus (PV), virus desnudos de la familia *Papillomaviridae* es de tipo ADN oncogénicos, que ataca principalmente al tejido epitelial cutáneo y mucoso, se presenta en casi todas las especies de mamíferos, aves y reptiles, incluyéndose el Humano. El Papilomavirus interna e ingresa a través de cortes, abrasiones y lesiones por múltiples factores, que origina a la formación de neoplasias benignas llamadas comúnmente papilomas o verrugas, (Saveira M. 2006).

Los virus del papilomavirus fueron agrupados originalmente junto a los poliomavirus perteneciente a la familia Papovaviridae caracterizado por su tamaño pequeño sin envoltura y con genoma de tipo DNA circular con doble cadena. Se reconoce después que estos grupos de virus contienen genomas con diferentes tamaños, cosa que las organizaciones genómicas fueron totalmente diferentes sin ninguna similitud que tenga importancia en la secuencia de aminoácidos y nucleótidos. Por ese entonces, el Comité Internacional de Taxonomía Viral, se pone en acuerdo que el virus de la papilomatosis bovina es clasificada en la actualidad en la familia de los Papillomaviridae, (De Villiers E. *et al.*, 2004).

Existen más de 300 tipos de papilomavirus en todas las especies, considerándose 200 tipos de papilomavirus aproximadamente en los humanos. Pero sin embargo, el virus de los papilomas tienen organizaciones genéticamente casi similar. Caracterizados principalmente por el genoma del virus con doble cadena de ADN circular, compuestas por 8 kilobases aproximadamente dividiéndose en tres regiones (Saveira M. 2006).

El virus del papiloma no es zoonótico, el contagio es especie-específico en cuestiones experimentales no infectan a otra especie natural, incluso en bovinos la infección se manifiesta por regiones por el tipo de virus que presenta. Sin embargo la única incidencia reportada de infección no específica en la especie es la infección a los equinos y otros por el Papilomavirus Bovino de tipo BPV-1 y raramente el de BPV-2, (Nasir L. *et al.*, 2008).

**Características virales:** La definición del virus se da por un conjunto de macromoléculas orgánicas, actúan como organismos vivos una vez que ingresan a una célula huésped, son capaces de reproducirse y transmitir sus genes. Tienen la capacidad de evolucionar, autoreplicarse, modificar su código genético, conserva una especificidad para la interacción en las células hospedadoras, es así que experimentan variaciones para su transmisión a sus progenies, (Vargas M. 2002).

El virus contiene sus elementos detallados para preparar su genoma viral específico y eficiente, tienen la capacidad de escapar de células infectadas, sobreviviendo la transferencia hacia un nuevo huésped, se unen, penetran iniciando una nueva etapa de replicación. Los virus pueden estar encapsulados armados a manera de una concha, para poder proteger el ADN viral (Knipe D. *et al.*, 2007).



La descripción estructural del virus, poseen múltiples términos relacionados que sirven mencionar. La partícula viral completa se denomina virion; que contiene protómeros o subunidades proteicas, correspondientes a unas secuencias polipeptídica. El virion mantiene unidades de ensamblaje, quiere decir un grupo de protómeros para la formación de bloques de ensamblaje mayor denominado “capsómero” donde se define como unidades morfológicas viral ubicándose en la superficie del virus. Por otro lado el cápside es la capa proteica externa que rodea y protege todo genoma viral. Existe virus aun con mayor complejidad presentando un nucleocápside correspondiente a uniones de proteínas con DNA que envuelven al genoma. Existen también virion con presencia de una membrana o envoltura, de forma lipídica unidas a las glicoproteínas que rodean a toda la estructura viral (Vargas M, 2002).

Existen virus que no pueden obtener cubierta, en donde se forma la bicapa de membrana de lípidos. Aquellos virus que mantienen una sola cubierta lo obtienen al “echar raíces” mediante membranas que es a través de células hospedadoras, donde puede ser el retículo endoplasmático, membrana plasmática o el aparato de Golgi. Es el último paso en la formación de membranas para su ensamblaje del virus de mucha importancia para la salida del virus de la célula afectada (Knipe D. *et al.*, 2007).

La posible cantidad del código genético que mantiene el virion es limitado por lo cual, existe una cantidad limitado de proteínas en el virus. Es por la única razón que su forma estructural se transforma por un reducido número de subunidades proteicas, por ello se organizan de forma simétrica, utilizando las copias de una misma proteína, o también proteínas con varias conformaciones, (Vargas M. 2002).

Su envoltura viral se compone de variedades subunidades similares, la interacción de estas subunidades son bien específicas y definidas. Toda capa proteica que envuelve al virus se le define “cápside”, etimológicamente del latín capsula, que quiere decir caja; su función principal es de empacar el DNA o ARN de la estructura viral. Gran parte de las proteínas con envoltura se denominan proteínas de membrana tipo I, porque se compone de un ectodominio, una “cola” de citoplasma y una hélice alfa transmembrana, El enlace entre la glicoproteína de membrana y el sitio diana de las subunidades del matriz se obtiene envolturas específicas para tener que incorporar las proteínas (Knipe D. *et al* 2007; Vargas N. 2002).

Las proteínas que están en la superficie del virus con envoltura mantienen dos funciones: el primero es que actúan de receptores en la unión, el segundo como receptores también de fusión. Por otro lado, pueden existir enzimas que destruyen a los receptores que dan facilidad para liberar los virus de la célula huésped. (Knipe D. *et al.*, 2007).

Pero en los virus sin envoltura o con envoltura, las estructuras más superficiales juegan un papel que tienen mayor importancia en cuanto a la estimulación hacia el sistema inmunológico. En el lugar más externo del virus poseen antirreceptores, compuesto por proteínas encargadas en la unión hacia los receptores de membrana celular del huésped (Vargas M. 2002).

**Ciclo de vida del virus:** Resultaba bastante complicado un claro establecimiento del ciclo de vida del Papilomavirus, por la razón de falta de capacidad en la replicación de virus en los cultivos celulares y que inicialmente el estudio podía incluir la descripción durante la distribución de los genes y la reproducción del genoma en posibles daños de animales y humanos. Se consideraban modelos de la fase temprana en la infestación a células transformadas en cultivo por los Papilomavirus, y mientras en las estructuras epiteliales y las verrugas infestadas por el virus se consideran como una fase tardía. (Saveira M. 2006; Garcea R. 2007).

En la actualidad se practica diversos métodos de cultivos tisular induciendo la línea celular manteniendo su estabilidad de los plásmidos y el genoma viral, existen modelos para la inducción a la diferenciación del epitelio que es necesaria en producir nuevos viriones; es así que mediante esta fórmula se han podido reproducir viriones *in vitro* que son auténticos, con partículas de virión no infecciosas y pseudoviriones y (Garcea R. 2007; Saveira M. 2006).

Se menciona también que se han utilizado genomas de virus del Papiloma Humano con algunas mutaciones muy específicas a fin de evaluar los productos genéticos del virus durante el ciclo de vida viral en las células epiteliales. Por otro lado se estudiaron proteínas virales individuales y genes en ensayos celulares bioquímicos, para el estudio de su transcripción, transformación, replicación del virus. (Garcea R. 2007).

El ciclo de vida viral del Papiloma puede desarrollarse durante tres etapas:

1. En la primera etapa inicia con el ingreso del virus y su establecimiento para la replicación del gen.
2. En la segunda etapa prosigue su mantenimiento del gen extracromosomal dentro de las células basales en plena división.
3. La tercera etapa incluye el crecimiento de los genes en células queratinocitos diferenciados, con expresiones de de genoma tardío y la construcción de viriones nuevos (Saveira M. 2006).

El ciclo de vida viral está ligado principalmente a un proceso de diferenciación en las células huésped del epitelio. Pero aún no se llega a saber a detalle sobre receptor específico en la membrana celular para el ingreso del virus, se sabe que en la unión del virus, el sulfato de heparina logra dar facilidad en la entrada. Menciona también la intención del ingreso inicial se da en las células basales del tejido epitelial, que se expone a los resultados de heridas minimizados en los epitelios estratificados facilitando así la infección (Garcea R. 2007).

Después de la unión del agente viral hacia el receptor posteriormente la entrada celular, los virions viajan hacia el núcleo de la célula, para establecer sus genes en diversas y múltiples copias de plásmidos extracromosomales, llegando entre 20 a 100 copias por cada célula basal. La replicación del genoma viral sucede durante la fase S del ciclo de la célula, por acción de proteínas virales denominadas E1 y E2, conjuntamente ayudadas por las proteínas de la replicación celular (Garcea R. 2007).

Después de la replicación el genómica haya sucedido división celular, producto de estas una de estas células hijas viaja hacia el tejido basal del epitelio iniciando así el desarrollo de la diferenciación. Tradicionalmente se retiran las células madres (queratinocitos) del ciclo celular, una vez salido de la capa basal, son degradados los núcleos, en casi todas las células diferenciadas. Pero sin embargo, las células afectadas con el virus del papiloma sufren un proceso de diferenciación, manteniéndose después activas dentro del ciclo celular, luego las células suprabasales diferenciadas altamente, les permite iniciar nuevamente la fase S y de esta manera llegar la estimulación para la replicación del ADN viral en altos niveles. Para continuar con el ciclo celular diferenciadas existe la habilidad mediada por una proteína denominada E7 (Garcea R. 2007).

Otra determinación existente es la multiplicación y amplificación de genes del virus en las células supra-basales del epitelio propiamente diferenciado, coincidiendo con la activación del promotor viral tardío que se encarga de codificar el cápside viral con proteínas L1 y L2, como mediadores de la función E1-E4 y E5. Los nuevos virus o hijos viriones son distribuidos en células altamente diferenciadas, para ser liberados hacia el medio externo de la célula huésped, (Garcea R. 2007).

En el proceso de establecimiento de la infección, el cápside cumple una función de mucha importancia es el caso del virus que vienen sin envoltura, el ácido nucleico viral viene con un abrigo proteico que lo rodea y es protegido de la degradación por cualquier factor externo, esta le permite interactuar con la superficie celular para su interacción. Después de infectar al huésped, el virion hace que se elimine el abrigo proteico para así liberar su genoma viral, posteriormente iniciar con la transcripción y replicación durante el ciclo celular (Saveira M. 2006).

Según los estudios realizados se menciona que el virus del papiloma se une hacia receptor celular del medio superficial gracias a los procedimientos que participan las proteínas L1, L2 actuando como receptores de gran afinidad. Existen estudios donde mencionan que la infestación necesita interacciones específicas de baja mediada por unión de L1, posteriormente la interacción de proteínas aún más específica, donde forman parte del L2, (Saveira M, 2006).

Cabe recalcar que entre los compuestos con mayor afinidad lo posee una partícula para la interacción del virus, allí se encuentra a los Glucosaminoglicanos o también denominados compuestos GAG: son compuestos químicos formados por el sulfato de heparina, heparina, sulfato de dermatina, sulfato de condroitina; ácido hialurónico y sulfato de queratina. La importancia de los Glucosaminoglicanos cumplen funciones como receptores celulares de superficie o en superficies sensibles a la tripsina con el objetivo de permitir la interacción entre el cápside viral y la célula hospedadora proceso que llegan a unirse para la replicación, (Saveira M, 2006).

## **1.2.2 PAPILOMATOSIS BOVINA:**

Como se mencionaba anteriormente es una enfermedad neoplásica benigna causada por un agente viral que se manifiesta con la formación de verrugas sobre la epidermis del bovino, presenta mayores incidencias en el torax, cuello y cabeza; provocando constantes inquietud en el animal, impidiendo su adecuada conversión alimenticia, alterando también otras funciones reproductivas originando alta morbilidad dentro de la población (Batista P, 2002).

La papilomatosis presentan verrugas que crecen lentamente desarrollando formaciones de nódulos; posteriormente proceden a la aparición mas rápidamente llegando a tamaños diferentes considerable que se van queratinizando, cornificando adquiriendo formas similar a la estructura de un coliflor, pedunculados o como granos de arroz. Estos papilomas generalmente se ulceran por infecciones secundarias afectando la producción de carne y leche. Por otra parte cabe mencionar los animales infectados presentan dificultades en la comercialización debido su mal aspecto, deterioro en el cuero para la industria de marroquinería (Valencia C, *et al.* 2013).

Esta enfermedad mantiene dificultades variadas en su control gracias a los tipos diferentes del virus que presenta en los bovinos, de los cuales se han clasificado en seis variedades de acuerdo a su forma y zona de afección: el Tipo 1 y 2 afecta específicamente cabeza, cuello, mucosa vaginal, pene; el Tipo 3 afecta principalmente en la piel; el Tipo 4 variante que afecta a las mucosas del tracto digestivo y está asociado con el consumo de heleichos; el Tipo 5 presenta en forma de granos de arroz en pezones y el Tipo 6 muestra una forma aplanada también en los pezones. (Valencia C. *et al.*, 2013).

Por su naturaleza tumoral neoplásica y por su etiología viral varios autores recomiendan tratamientos quirúrgicos y la quimioterapia. Los últimos conceptos sobre inmunología tumoral proporcionan las bases para el establecimiento de una nueva modalidad para el tratamiento Antitumoral, la inmunoterapia que es la más reconocida y recomendada, (Zaldivar Q. 2014).

### **1.2.2.1 Papilomavirus Bovino:**

Se han registrado hasta 6 tipos de virus que ocasionan daños específicos según a su forma y lugar de afección y con histopatologías diferentes en el bovino. Son agentes virales especie

específicos, quiere decir que en condiciones experimentales no existe zoonosis o contagio hacia el hombre, pero tal como se mencionó anteriormente el caso único reportado en contaminación cruzada a otra especie es la infección hacia los caballos u otros équidos con virus de tipo BVP-1 y BVP-2. Los estudios del virus del papiloma ha permitido detallar a más cerca su biología viral, el proceso en el que se relaciona y se conoce directamente entre la infección a la neoplasia, la interacción entre el virus - huésped y el medio ambiente, el proceso de la reacción inmunológica del huésped hacia el virus aunque hay ciertas interrogantes hasta el momento, el desarrollo de las primeras vacunas frente al agente y su importancia económica (Saveira M. 2006).

Como se mencionó anteriormente hasta el momento se detectaron seis tipos de Papilomavirus, los subgrupos A (BVP1, BVP2, BVP5) producen fibropapilomas; mientras que el subgrupo B (BVP3, BVP4, BVP6) produce verruga epitelial. Los serotipos distintos del virus mantienen diferentes predilecciones y son específicos. se caracteriza por la localización, su extensión y la duración de la lesión, estos dependen del serotipo viral en el que está involucrado:

<b>Tipo</b>	<b>Lugar de afección</b>
BVP 1:	Se caracteriza por la presencia de fibropapilomas frondosos en el pene y los pezones y están en forma de una hoja en la ubre y en la piel.
BVP 1 y BVP 2:	Se caracteriza por la presencia de fibropapilomas en el cuello, espalda, cabeza y en la parte ventroabdominal del cuerpo
BVP 2:	Presencia de fibropapilomas con estructura similar a un coliflor en la región abdominal y anogenital, tiene relación con el cáncer de vejiga.
BVP 3:	Presencia de papilomas cutáneo.
BVP 4:	Presencia de papiloma en el tracto digestivo (esófago, rumen, retículo e intestino delgado). Provoca también papilomas en la cavidad bucal.
BVP 5:	Presencia de fibropapilomas similar a los granos de arroz en ubres y pezones.
BVP 6:	Presencia de papilomas frondosos ubres y los pezones en forma de hojas

Cano J., 2002

### **1.2.2.2 Epidemiología:**

**a) Presentación:** La Papilomavirus es un agente cosmopolita, se presenta en todas las especies animales y en bovinos generalmente en las especies de *Bos Taurus* (Radostits O. *et al.*, 2002).

- b) Morbilidad:** El problema es variable, puede llegar a promediar 75 % de la población, la enfermedad puede permanecer años por la existencia de animales susceptibles al virus, (Vásquez R. *et al.*, 2012).
- c) Periodo de incubación:** En las vacas puede durar de 3 a 8 semanas, en las exposiciones al medio natural generalmente es mayor los casos (Radostits O. *et al.*, 2002).
- d) Origen y transmisión de la infección:** Para que inicie la infestación del virus se requiere la presencia de factores como el medio ambiente, la presencia de daños superficiales en la piel, mucosas, estrés, etc. (Dirkson G. *et al.*, 2005).

Los bovinos que son afectados de manera subclínica son portadores, así como animados e inanimados, estos animales juegan un factor determinante para el contagio hacia animales sanos. Los medios para el contagio del virus hacia un animal sano influye mucho la falta de bioseguridad como por ejemplo en las instalaciones, herramientas de la pradera, materiales zootécnicos, instrumentos no desinfectados correctamente como pinzas, emasculador, vagina artificial, instrumento de descorne, guantes para palpación rectal, jeringas, inseminación artificial, (Dirkson G. *et al.*, 2005).

La diseminación de la enfermedad es mayor cuando hay situaciones de estrés como transporte o destete, también cuando existe la propagación de garrapatas pueden provocar o agravar la enfermedad. Se han determinado aunque no científicamente a los insectos que propagan e infectan el virus a través de la epidermis, este detalle aún sigue siendo difícil en demostrar científicamente, sin embargo; se determina la forma como el agente viral se introduce en grupos aislados de hospedadores. Estos hallazgos muestran una posible forma de que el virus puede presenciarse de manera latente dentro del organismo del bovino, (Melo C. *et al.*, 2003).

La determinación del genoma viral en verrugas, semen, leche de un bovino afectado en la piel, sangre de un ternero en pleno nacimiento, o en fluidos de la placenta, la sangre periférica sugiere una muestra de vía de difusión a otros organismos, tejidos proporcionando pruebas de transmisión vertical del virus del Papiloma, (Freitas A. *et al.*, 2007).

Se han registrado también presencias de secuencias de ADN del Papilomavirus Bovino en muestra ovárica, fluidos, uterinas y ovocitos, en vacas decaídas no infestadas por papilomatosis cutánea, también muestra de semen en machos usadas en la Inseminación

Artificial. Estas pruebas atentan la posibilidad de transmitir el virus a través de prácticas en la inseminación artificial, fertilización in vitro, transferencia de embriones, (Carvalho C. *et al.*, 2003).

### **1.2.2.3 Patogenia:**

El proceso patógeno de la Papilomatosis B. está directamente relacionada con respuesta débil en Inmunología. Los daños Papilomavirus se presenta una vez que el virus ha infectado al huésped, mediante abrasiones mas heridas en la piel. El ingreso del virus a células epiteliales conlleva a la aparición de neoplasias, seguida por deformación epitelial y queratinización. En estos cambios generalmente se presenta entre los 4 a 6 semanas, una vez que inicie la infestacion. Los daños con neoplásias iniciales se menciona como papilomas, condilomas o verrugas; por su naturaleza son benignas, pero se pueden determinar un desarrollo de hiperplasias, influenciadas generalmente por factores ambientales (Freitas A. *et al.*, 2007).

El virus ataca a las células basales, principalmente en los queratocitos, replicando su genoma en láminas diferenciadas propiamente granular y espinosa, ocasionando el crecimiento muy rapido típico en el desarrollo de verrugas. Los papilomas contienen tejidos epiteliales y conectivos, esto podría ser un fibropapiloma o papiloma, dependiendo si existe poca cantidad de tejido conectivo o tambien fibrosos con bajas proporciones de tejidos epiteliales. Las verrugas se dan como respuesta a una hiperplasia celular sin producir el antígeno viral. Cabe mencionar que pueden desarrollar una afección latente a nivel dérmico y con linfocitos (Radostits O. *et al.*, 2002).

Los daños por fibropapilomas se mantienen al menos de 4 a 6 meses antes de que se forme una regresión espontánea, varias papilomas suelen tener una regresiones simultánea. Todavía aún no han sido esclarecidas la fase de patrones en el proceso de desarrollo de las verrugas; pero se menciona en la fase 1, las verrugas se muestran como placas ligeramente elevadas por consiguiente de 4 semanas la manifestación viral. Se presentan características en la fase 2, daños citopatológicas, con el virus en plena replicación y viriones con agregados cristalinos; que pudiendose observar a los 8 semanas después del ingreso viral. Los papilomas en la fase 3, tienen particularidades en tener bases en forma pedunculadas y fibrósadas, con presencia de duras superficies, fungiformes y lobulares, que a las 12 semanas se aparecen.



Los niveles de anticuerpos neutralizantes se cree mantener relación con la protección contra la reinfección y la regresión de lesiones (Murphy F. 1999).

Los procesos de transformación hiperplásicas y las acciones del virus oncogénico se expresa virus oncogenes en el interior de las células, estos pertenecen a los procesos de genomas tempranos, se denominan oncoproteínas y malogran el proceso del ciclo celular, a través de la interacción con proteínas p53 y pRb, que determina una anormalidad genética. Se menciona que el virus no se disemina por sangre por ello no existe viremia; en el ganado sin embargo se detectaron ADN del Papilomavirus en la sangre periférica en los animales infectados. En cultivos con linfocitos se observaron anormalidades en los cromosomas, esto es evidente la presencia de genes virales en las células linfocitarias; aunque se han mencionado que los linfocitos con presencia del genoma viral puede ser el lugar de latencia del papilomavirus, (Freitas A. *et al.*, 2007; Melo C. *et al.*, 2003).

Aunque el virus del Papiloma Bovino se caracteriza por ser epiteliotropo, se menciona que se puede encontrar el virus en fluidos corporales como en el plasma, sangre completa, leche, líquido amniótico, semen, placenta, calostro(Freitas A. *et al.*, 2007).

#### **1.2.2.4 Patología Clínica:**

Hasta el momento no se ha detectado detalles, cambios específicos al nivel de la química sanguínea o el hemograma, sin embargo el bovino infectado con el virus mantiene menores números de linfocitos CD2 y CD4; y mayores números de linfocitos T gama-delta; principalmente los linfocitos B, que muestran los anticuerpos de IgM, (Radostits O, *et al.*, 2005).

Es normal y necesario practicar la biopsia, pero tradicionalmente con la observación de lesiones clínicas son fáciles de detectar la enfermedad. La observación en microscópica óptica las verrugas muestra la estructura epitelial hiperplásica con escasos tejidos dérmicos; sin embargo en los Fibropapilomas es predominante las estructuras dérmicas. Para realizar la detección el tipo específico del virión, se utiliza a través de las pruebas serológicas e histopatológicas; también se puede practicar también la prueba de ELISA, pero mayormente se recomienda el uso de PCR a través de raspados tisulares y muestras de biopsias (Radostits O. *et al.*, 2005).

El contagio del Papilomavirus se da por producir verrugas, y acantosis, hiperplasia en la lámina espinosa con prominentes gránulos de queratohialina en el estrato granular. También se pueden presentar vacuolización perinuclear o koilocitosis, principalmente los núcleos marginados con forma de una hoz. También se da paraqueratosis hiperqueratosis, en el epitelio córneo. (Mc Bride A. *et al.*, 2000)

Las lesiones muestran marcadas hiperqueratosis según a los análisis histopatológico con proyecciones superficiales con similitud a cuernos, largas y gruesas igual que la forma de pelo; además hiperplasia en la epidermis con zonas de erosión, ulceración e infiltración de neutrófilos. La superficie dérmica de la verruga se observa una infiltración templada de Eosinófilos, Neutrófilos con ciertos linfocitos. Los daños con natural regresión en la evaluación histopatológico muestra una infiltración intensa de linfocitos, en el epitelio y en la dermis del animal (Freitas A. *et al.*, 2007).

#### **1.2.2.4 Diagnóstico:**

Según a sus características, las verrugas, fibropapilomas cutáneos y mucoso son fáciles de diferenciar y reconocerlos (Dirkson *et al.*, 2005). Pero mediante el uso del microscopio electrónico, se puede observar el virus. También se practican las pruebas de hibridación y la utilización del PCR para detallar el genoma viral, sin embargo estas prácticas de estudio no corresponden a las pruebas rutinarias de dicha enfermedad. (Radostits O. *et al.*, 2005).

Entre las pruebas más sugeridas que brindan una información aceptable que tienen importancia en el diagnóstico de la Papilomatosis, las que más resaltan son la histopatología a través de la microscopía electrónica, la inmunohistoquímica para la detección del ácido nucleico del Papilomavirus (Romanos M. *et al.*, 2002).

Se dispone de ensayos de hibridación y de métodos de PCR para la detección del ADN de los papilomavirus pero no son de uso rutinario. Los aislados víricos se pueden tipificar mediante la extracción de su ADN y el análisis con endonucleasas de restricción o mediante Southern blotting. (Quinn, 2005). Mediante la histopatología en el microscopio se puede confirmar el diagnóstico; pero existe una forma de detectar el virus durante un brote, se requiere de exámenes serológicos como la prueba de ELISA (Campo M. 2006).

### **1.2.3 FACTORES DE RIESGO:**

**1.2.3.1. Edad:** En animales jóvenes ocurre principalmente lesiones en la cabeza, cuello y tienen menor inmunocompetencia; se afirma que los animales mayores son menos susceptibles a la enfermedad esto debido a su inmunidad por contagios adquiridas inaparentes o aparentes cuando fueron menores de edad. La variedad de daños y su gravedad son ocasionados por inmunosupresión, promovidas por el estrés. se sugiere que se pueden determinar una infección latente hay manifestación clínicamente. Se registraron casos de infecciones congénitas en equinos como en terneros. La papilomatosis en algunas regiones del tracto gastrointestinal están asociados a BPV-4 y en lugares de las glándulas mamarias estos asociados al BPV-5 y persisten, estos casos se presencian en diferentes edades (Radostits O. *et al*, 2002).

**1.2.3.2 Parásitos:** Las garrapatas cumplen 2 funciones de importancia en el proceso de la enfermedad: primero, llegan a penetrar la piel creando puntos de ingreso directo en tejidos cutáneos y así Ingresar virus para facilitar la infección. Segundo, estos parásitos succionan enormes cantidades de sangre en bovinos afectados secretando compuestos corrosivos que con sus glándulas salivales lesionan la barrera epitelial impidiendo así la coagulación, también posee efecto de inmunosupresión: Disminuyendo todas las producciones de el IL-6 e IL 10 de parte de los Th2; y así promover la infestación del BPV ( Salib F. *et al.*, 2008).

Los parásitos internos como la fasciolas hepáticas y los nematodos gastrointestinales estos actúan como mecanismos inmunosupresores provocando el fácil ingreso de la infección viral; hace que disminuya los niveles de Mo, Cu, Zn y Fe, pero mientras la fasciola hepática daña a las respuestas del Th1 (Farghali H. *et al.*, 2008).

**1.2.3.3 Factores inmunosupresores:** Estos cumplen una función principal en el desarrollo de la infección, incluyendo también la participación de los parásitos externos e internos. De esta misma situación, existe la presencia de sustancias inmunosupresoras de los heleichos, por lo que ayuda a desarrollar el cáncer (Salib F. *et al* 2008).

**1.2.3.4 Factores animales:** A pesar que todos los animales son accesibles a poseer el Virus del Papiloma, esta enfermedad se muestra con más frecuencia en los équidos y generalmente en la producción bovina. Se han reportado en las cabras y ovejas pero con mínimas incidencias. La Papilomatosis es poco común en porcinos, afectando principalmente en la región genital (Radostits O. *et al*, 2002).

#### **1.2.4 TIPOS DE TRATAMIENTO**

Existen múltiples protocolos de tratamientos vendidos en el mercado común, y que están a disposición del productor ganadero, la mayoría de estos productos se han estudiado empíricamente sin buenos resultados en los fundos ganaderos, (Da Silva L. *et al.*, 2004).

La prevención y el tratamiento para la Papilomatosis Bovina es difícil de estudiarlo, por lo que es autolimitante y su proceso de permanencia es muy variable. Por muchos años se han utilizado variedades de protocolos de tratamiento para su control. La preparación y vacunación con proteínas de cápsides virales ha sido una de las más efectivas, pero de forma específica o sea para un solo tipo de Papilomavirus (Murphy F. 2009).

##### **1.2.4.1 Clorobutanol:**

El clorobutanol, un compuesto químico siendo la base del tratamiento comercial más difundido en el mercado actual, no está muy descritos su mecanismo de acción pero se cree que actúa en el metabolismo del virus de la Papilomatosis, provocando el impedimento en su crecimiento. El clorobutanol también posee otras funciones como ser un potente antiséptico, y actuando como anestésico local, lo que hace al producto comercial más fácil en sus aplicaciones ser indoloro, por lo que hay ventaja de estar exentos de efectos secundarios (Reza L. 2008).

Pero se sugiere que la administración de este producto puede ocasionar irritación en la zona administrada, también tiene la necesidad de repetir la suministración cuando hay verrugas enormes o en casos avanzados. Los resultados después de la suministración es muy variables (Da Silva L, *et al.*, 2004).

### **1.2.4.2 Autohemoterapia:**

Una autohemoterapia promueve la estimulación proteínica inespecífica. Los productos que hacen la degradación eritrocítica se conocen también por la estimulación de la eritropoyesis e incentivar el trabajo del sistema inmune normal, esto permite la manutención de la homeostasis. El sistema inmune se estimula y es activado iniciando con la producción de anticuerpos contra la Papilomatosis, lo que provoca a la eliminación de dicha enfermedad, se considera por ser más económico (Lobato Z. *et al.*, 2000).

Se ha realizado un estudio practicado en 4 dosis de 20 ml. de hemoglobina (sangre) sin anticoagulante con intervalos de ocho días, los resultados lograron una efectividad del 50% de regresión a su estado normal (Santín A. *et al* 2004).

### **1.2.4.3 Autovacunas:**

Dentro de la estimulación inmunologica, son más recomendadas las vacunas autógenas o no autógenas, poseen una efectividad curativa, preventiva, siendo así una forma de control hacia la Papilomatosis más sugerida. En los bovinos, las vacunas autógenas preparadas a través de tejidos infectados con papilomatosis suelen ser eficaces en todo el caso, pero también se comprobó que la suministración de la vacuna en dosis repetida promueve la prevención disminuyendo casos nuevos de Papilomatosis, para el tratamiento en animales infectados con Papilomatosis es la más sugerida (Eisa M. *et al* 2000; Radostits O. *et al.*, 2002).

Las autovacunas poseen ventajas al ser preparadas con el tipo de virus más específico dentro de la Papilomatosis bovina. (Radostits O, *et al.*, 2005). La autovacuina son preparados inicialmente con tejidos verrugosos de forma homogénea, que se macera, filtra y la inactivación con formaldehído. Por los tipos de virus de la Papilomatosis Bovina, se recomienda ser cuidadosos al seleccionar los tejidos verrugosos para su preparación. se puede seleccionar según tipo de localización, composición histológica o según al tumor. El tiempo del desarrollo de la Papilomatosis tiene importancia, los virus siempre se encuentran con mayor concentración en tejidos epiteliales de los papilomas más antiguos que en los más nuevos (Radostits O. *et al.*, 2002).

También puede utilizarse diferentes tipos de tejido verrugoso en la autovacuina. Pero suele suceder la regresión a la Papilomatosis tras la suministración a un grupo de bovinos con una solo antídoto preparado a partir de un mismo bovino del grupo, esto a sido presenciada mas

de un tipo de Papilomavirus en el grupo.

En el preparado de las autovacunas se realiza con la trituración de la verruga, sumergido en suero fisiológico, añadiendo formol al 0.5%, para inactivar el virus y un poco de amoxicilina (antibiótico) para contrarrestar otras infecciones bacterianas, las verrugas para el machacado deben ser de la parte más deshidratada. Según algunos estudios este tipo de tratamiento, muestra un mayor éxito por encima del 90 % (Zelaya A. 2007). Pero según otras evaluaciones; para la preparación de las autovacunas se extraen 5 gr. aproximadamente de papilomas, se procura tomarlos de la parte periférica de la verruga ya que en los papilomas secos o viejos poco más difícil encontrar al virus viable; de la misma forma se prefiere tomar los papilomas más rugosos que los lisos, diferentes protocolos aún falta comprobarse por la contradicción que existe en el preparado, (Reza L. 2008).

La vacuna puede administrarse de manera subcutáneas, pero se afirma que los resultados son más eficaces cuando la inyección es intramuscular. hay variabilidad en la dosis, pero se recomienda dos dosis cada 8 días de intervalo. Los primeros efectos en la curación se muestra en los 18 a 30 días, los resultados muestran un 80 al 85% de efectividad solo en casos cuando los papilomas están en la superficie del cuerpo o en el pene del bovino, pero solo en el 33% de efectividad cuando las verrugas están en los pezones. La respuesta es mala cuando las verrugas están planas y sésiles, (Radostits O. *et al.* 2002).

### **1.2.5 IMPORTANCIA DE LA PAPILOMATOSIS:**

Esta enfermedad está distribuida a nivel mundial, están en diferentes climas, en todos los países del mundo. Pero mayormente se han reportado la enfermedad con mayor incidencia en territorios tropicales, semidesérticas y selváticos. Principalmente en épocas secas o verano, debido al estrés, la proliferación de insectos, poca alimentación, parásitos como garrapatas, son factores más comunes, (Redvet 2010).

En Brasil, las afecciones por la Papilomatosis Bovina se consideran endémicas en la producción con bovino de carne como de leche. A pesar de todo ello, la detección del tipo del Papilomavirus Bovino no es muy bien definida (Claus M. *et al.*, 2009).

Se utilizaron primers específicos en Brasil, para la detección del virus, es así que fueron descrito el BPV-1 en papilomas de la dermis, el plasma, en sangre periférica del ganado, y el BPV-2 se ha identificado en vejigas con tumores, sangre, en bovinos con hematuria enzoótica crónica. (Claus M. *et al*, 2009).

En cuanto a la edad, la mayor incidencia de la enfermedad se da un 61,5% de los animales menores a un año; 23% en animales menores a dos años y 15,4% en bovinos mayores a los dos años edad promedio. El mayor ingreso de infección del virus en animales menores se asocia con el proceso del desarrollo de su sistema inmunológico y a causa que el pH es más alcalino en la dermis, también se relaciona con la susceptibilidad a la infestación por parásitos (Salib F. *et al.*, 2008).

La presentación de lesiones verrugosas en la producción bovina interfiere diversos procesos. En los bovinos de raza pura, los daños afectan en la comercialización o en la venta a causa de una apariencia desagradable en el cuero. En animales con daños más avanzados poco a poco van perdiendo su condición corporal; y los papilomas inducen a ocasionar traumatismos severos provocando susceptibilidad a agentes bacterianas de tipo secundario. También suele haber pérdidas considerables en la venta del bovinos para el camal, disminuye el valor económico de la piel, (Radostits O. *et al.*, 2005).

Otro de los problemas más recurrentes de la enfermedad es la propagación de las verrugas en las ubres y pezones de las vacas en producción. Este daño si es especialmente causado por BPV-6, esto no solo es un problema sanitario sino las consecuencias económicas son bastante considerable. Cuando la propagación de la enfermedad es altamente significativa, las vacas con papiloma en los pezones no logran poder ordeñarse, los terneros poseen la dificultad de no poder alimentarse de la madre, las verrugas pedunculados se desprenden continuamente, provocando una vía de infección para posteriormente producirse una mastitis, seguidamente se muestra una alteración del conducto de las ubres. El productor ganadero se ve en la obligación de sacrificar al ganado si la enfermedad no se llega a contrarrestar, (Campo M. 2006).

Aunque la Papilomatosis no representa pérdidas aceptables en la producción de carne, es un problema importante en animales de raza pura, principalmente en las exposiciones. En países como USA, si hay presencia de una verruga es descartado y no se le otorga el certificado sanitario para la integración en cualquier tipo de exhibición (Charry J. 2011).

### 1.2.6 INMUNIDAD:

La respuesta inmune del ganado hacia el virus del papiloma bovino es sorpresivamente muy pobre. Los animales pueden presentar tumores muy enormes, produciendo grandes cantidades activamente de Papilomavirus, pero su respuesta inmune del animal no responde fácilmente a al antígeno del virus del papiloma durante el proceso de infeccioso y el anticuerpo antiviral es raramente detectado. Estos casos están considerados en todo los tipos de virus del papiloma que son investigados sin brindar una conclusión exacta, incluyendo el sitio de infección o el tipo viral de la baja respuesta inmunológica (O'Brien P. *et al.*, 2002).

En ciertos animales se llegan a observar presencias débiles de respuestas celulares de linfocitos T y B hacia las proteínas transformante E7 o la capsida pero durante las etapas tardías de la infección y pueden que esten asociadas con el rechazo de la Papilomatosis. esta pobre respuesta inmunologica hacia el virus del papiloma probablemente sea una principal razón para su persistencia durante la infección, incluso en agentes hospederos inmunocompetentes, las verrugas persisten muchos meses antes de que se produzca la regresión a su estado normal (Campo M., 2006).

La piel constituye la primera línea de defensa contra muchos invasores, y lleva a cabo esta función de manera muy eficaz. Una manera de lograrlo es mediante un sistema de atrapamiento local de antígenos, que puede presentar estos últimos a los linfocitos de un modo muy eficiente, y que provoca así una rápida respuesta inmunitaria. El sistema de atrapamiento de los antígenos de la piel consta de una red de células dendríticas, situadas en la epidermis, que reciben el nombre de células de Langerhans. Este tipo celular posee antígenos MHC de clase II sobre su superficie, y es capaz de presentar antígenos a los cercanos linfocitos T colaboradores. Los queratinocitos aumentan las actividades de estas células de Langerhans (Downs N. *et al.*, 2008).

En el rechazo del virus tipo BPV-4, son acumulados enormes cantidades de linfocitos en la epidermis muy activados en la base de la verruga. Estas células linfocitarias CD4+ son de subtipos predominantes, a ellos lo linfocitos CD8+ y células T  $\gamma\delta$ . L. CD8+ y  $\gamma\delta$  son predominantes en las células basales y en los queratinocitos (Campo, 1998). El aporte de subtipos de linfocito individual para que regresión de la verruga no fueron establecidos pero reportaron distribuciones diferenciadas similares de linfocitos CD4+ y CD8+ en papilomas en genitales con regresiones en humanos y también en los conejos, estas igualdades



topológicas entre los daños, tiempo y la regresión en los distintos tipos de sistemas de Papilomatosis se afirma las generalidades en la observación (Campo M, 2006).

La falta inmunológica en reconocer o detectar al virus infectante es desconocida por el simple por la razón que el ciclo de vida viral muestra restringido hacia el tejido epitelial, conjunto al nivel bajo de expresión de las proteínas del virus y por ello también la falta de procesos de inflamación. Como resultado del daño tisular los mediadores inflamatorios se liberan como provocado por un invasor patógeno, esto activa a las células presentadoras de antígenos especializadas localmente tales como las células de Langerhans, permitiéndolo los procesos para preseciar eficazmente al agente extraño por células T, provocando una respuesta efectora de linfocitos a través de la expansión linfocitaria específica para el virus. Pero los Papilomavirus son no líticos, es decir la infección provoca una respuesta nula o muy poca para la inflamación, esto quiere decir que la señal puede estar ausente (O'Brien P. *et al.*, 2002).

El cápside del virus son inmunogénicas tal como se demuestran en las investigaciones autovacunales que ayudan al proceso de desarrollo de anticuerpos neutralizantes, procesos que son invisibles esencialmente para el virus (O'Brien P. *et al.*, 2002). Esta determinación está afirmada debido a que los animales de campo que presencian tumores con úlceras, irritados, mantienen altas cantidades de anticuerpos contra el papilomavirus siendo natural obteniéndose respuestas eficientes de anticuerpos para luego inocular intramuscularmente con proteínas virales o el virus mismo purificado, dando una afirmación sólo cuando la verruga este dañado se puede llegar a producir anticuerpos, los antígenos del virus entran en contacto con las células inmunológicas (Campo M., 2006).

A pesar que las cápsides del virus pueden llegar a ser inalcanzables a las células inmunitarias, las células con infección viral en el estrato basal inferior del epitelio donde hay expresión de proteínas viral, incluyéndose las proteínas E5, E6 y E7, estos tratan de estar expuestas a la vigilancia a través de las células efectores antivirales, incluyéndose además los linfocitos T. Las proteínas virales son inmunogénicas cuando están suministradas a través de autovacunas, hace que en el proceso de la infección, los antígenos no se presentan fácilmente al sistema inmunológico, no puede expresar detectables niveles por el sistema inmune. Esto conlleva a la ineficiente activación de linfocitos T resultando el desconocimiento

inmunológico de las células con la infección viral del papiloma, (O'Brien P. *et al.*, 2002).

Una de las funciones descubierta recientemente, la proteína E5 del Virus del papiloma bovino existe negativa regulación del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I (MHC I) (Nasir L. *et al.*, 2008). El MHC I se responsabiliza de presentar antígenos peptídicos a los linfocitos T efectoras. Es así que juega una actividad crítica en la respuesta inmunológica. Cuando la secuencia pesada del MHC I es disociado con  $\beta$ 2microglobulina y péptidos, el MHC se trasporta del retículo endoplásmico mediante el aparato de Golgi hacia las membranas para ser reconocidas por los linfocitos T (Tizar *et al.*, 2002).

La negativa nivelación del complejo MHC I por proteínas del Papilomavirus B. ocurre en múltiples niveles: la transcripción de los genes en la secuencia pesada del MHC I es muy reducido, el péptido viene a ser degradado y el MHC I es caoturado a través de las cisternas del aparato de Golgi impidiendo alcanzar irreversiblemente la superficie de la célula. La degradación del complejo en las cisternas del aparato de Golgi es gracias a dos procesos; primero, es la alcalinización producida por proteínas E5 del A. de Golgi, segundo por una interacción física directa de E5 y moléculas de MHC I. Esta intervención apoya firmemente la idea de la proteína E5 del Papilomavirus ayuda al proceso de la infección eficiente no sólo en su transformación celular sino por la negativa regulación del complejo MHC I, es así que permite una infección de la célula alterando la respuestas inmunológicas del animal infectado (Nasir L. *et al.*, 2008).

**1.2.6.1 Vacunación terapéutica y profiláctica contra el BPV:** El proceso que muestra en la respuesta inmunologica hacia el virus del Papiloma es pobremente muy reducido, se origina una respuesta inmunológica prolongada y muy pronta cuando los animales son suministrados con proteínas del virus del papiloma que ha llevado al desarrollo eficiente, exitoso de las autovacunas. La fase primera de vacunaciones consistió en la aplicación intramuscular con virus. Estas vacunas son clásicas porque indujeron fuertemente en producirse anticuerpos que neutralizan y protección completa hacia desafíos subsecuentes. Las vacunas sin embargo, proporcionan protección de manera específica hacia el virus homólogo es por ende que se denomina autovacunas. Las vacunaciones profilácticas se han logrado gracias a viriones BPV-1 y con neutralizantes anticuerpos se han producido vacunaciones utilizando proteínas L1 del BPV-1. después de estos estudios se acogieron a BPV-2 y BPV-4 fueron virus emblemáticos

de la piel y mucosas, debido a que ambos tipos de virus están involucrados, relacionados en el cáncer (Campo M. 2006).

La administración de vacunas preparadas con L2, BPV-4 ayuda a proteger desafíos contra BPV-4. Su inmunología reducida por L2 de BPV-4 tiene amplia duración, y los bovinos administrados son refractarios a un posible segundo desafío de la enfermedad superando más de un año después de la administración. La inmunidad es dada por N-terminal de L2. La respuesta de estos son persistentes en la observación del N-terminal de L2 y están expuestos sobre las superficies del virus BPV- tipo 1, entonces quiere decir que es viable por el sistema inmunológico. Se han verificado 3 epítopes de linfocitos B inmune dominantes en la N-terminal de L2, para dar protección total de la infestación es suficiente sólo con un péptido con 20 aminoácidos, que corresponden a uno de los epítopes (Campo M. 2006).

En la cápside del papilomavirus las proteínas pueden ensamblarse ellos mismos en partículas del virus (VLPs) estas cuando se expresan en células eucariotas. La partícula Viral es estructural y los antígenos son muy idénticos al virus, presentando también neutralizantes epítopes. Las partículas virales del BPV-4 en su composición como proteínas L1 y L2 o con presencia de una sola proteína L, son autovacunas profiláctica bastante eficiente, pero en su límite como vacuna terapéutica es de menos certeza. Su inmunología que protege contra el BPV tipo 4 logra sólo con la proteína L1 o con L2. Pero, a pesar que la administración con L1 o L2 promueve el desarrollo de anticuerpos que neutralizan, no siempre todos los procesos neutralizantes virales se desarrollan en la membrana de la célula. El BPV- tipo 4 se neutraliza por el suero anti-L2 una vez que ingrese hacia la célula, pero el mecanismo de la neutralización intracelular aún no han sido estudiados. Por ese entender, la L2 del BPV-4 brinda una poderosa autovacuna profiláctica, pero no protege contra una supuesta infección pero si contra la Papilomatosis (Campo M. 2006).

Algo muy importante, las vacunaciones de animales menores con proteínas E7 del BPV-4 como se vuelve a recalcar “no previenen la infección”. Pero los bovinos inyectados durante el proceso de desarrollo de la papilomatosis es demasiado lento y el tiempo de duración es más corta que en los bovinos controlados. Los bovinos menores suministrados con la autovacuna, muestra que las verrugas no alcanzan una etapa final de su proceso y comienza las regresiones a una temprana etapa. Es así, las administración con proteínas E7 acortan el desarrollo del papiloma induciendo una temprana regresión. Los terneros vacunados producen tres epítopes de células B muy dominantes (Campo M. 2006).

Los animales menores suministrados con proteínas E7 muestran una respuesta hacia 2 epítopes de linfocitos T, no es observado en los bovinos controlados. Es así, que las células linfocitarias de animales vacunados proliferan muy rápidamente en proteínas E7, y las células T de los bovinos controlados se muestran poco y a veces ninguno en su respuesta. Las verrugas que naturalmente regresionan y están penetrados por cantidades de linfocitos activos, sin detallarse a que antígeno viral está dirigido, la reacción inmunológica en terneros suministrados con autovacuna puede ser igual a la que media el desconocimiento de la verruga. Como para BPV tipo-1, una vacuna con subunidades basadas en proteína L1 del BPV- tipo 2 induce a la producción estos anticuerpos que neutralizan que brinda protección a una posible infección. En ese entender se pone en concordancia a la forma estructural del virus del Papiloma Bovino, del cual la L1 se muestra sobre la superficie del virus (Modis Y. *et al.*, 2002).

La autovacuna de tipo L2 del BPV-2 no protege el desafío del virus, por otro lado induce a una temprana regresión de papilomas; aun así los anticuerpos hacia los antígenos virales son regenerados en los individuos que estuvieron inoculados, ahí no puedes ser neutralizantes. Los papilomas que regresionan pueden observar cantidades enormes de infiltración linfocitaria y presencia de macrófagos, que dan como positivo a una respuesta inmunológica mediada por linfocitos (Campo M. 2006).

### **1.2.7 PREPARACIÓN DE MUESTRAS HISTOLÓGICAS PARA EL DIAGNOSTICO EN MICROSCOPIA ÓPTICA**

Para proceder un análisis histopatológico se obtiene a través de tejidos muertos, que se conserva a través de disoluciones químicas una vez que se de la extracción, luego para proceder diminutos cortes del tejido epitelial verrugoso. El proceso del preparado del corte se requiere mantener, lo más posible, la forma de su estructura del tejido, (Charry J. *et al.*, 2011).

**1.2.7.1 Fijación:** Es principal objetivo dar lisis las estructuras celulares, así para mantener el proceso celular dinámico, se debe realizar con toda la rapidez posible y detallada modificación en su estructura. Este metodo se realiza a través de componentes estructurales insolubilizables de una célula, con formaciones de lazos atravesados, estabilizando así proteínas gracias a los agentes fijadores químicos. Manteniéndose relacionadas entre estructuras como si fuera una

estructuras de células vivas, logrando así presión mecánica, que facilita el proceso a seguir en la preparación, de la muestra, (Charry J. *et al.*, 2011).

Entre los fijadores químicos más eficaces para la formación de transversales enlaces obtenemos el glutaraldehído, tetróxido de osmio, formaldehído, (Charry J. *et al.*, 2011).

La fijación interrumpe también otros procesos en una célula, como por ejemplo la autólisis celular, ocasionada por enzimas diferentes; o también como destruye microorganismos externos que puede destruir la muestra o el tejido. Para extraer una muestra una fijación se desarrolla a través de la inmersión con tejidos extraídos en uno de los fijadores. La recopilación de la muestra se debe realizar mediante instrumentales quirúrgicos para prevenir daños mecánicos en el tejido, (Charry J. *et al.*, 2011).

**1.2.7.2 Inclusión y corte:** Se somete a cortes histológicos una vez que el tejido este fijado, los cortes deben ser delgados cuidadosamente, para permitir la iluminación con el microscopio. Se recomienda tener un espesor promedio de 5-10 micrómetros, para ello se realiza mediante el uso de un micrótopo, (Charry J. *et al.*, 2011).

Para la utilización del micrótopo y hacer los cortes, la muestra debe someterse a procesos que pueda adquirir dureza y consistencia; esto se realiza con el uso de soluciones de inclusión, principalmente el uso de parafina. Antes de desarrollar los procesos de inclusión, deben ser deshidratados el tejido a través de un proceso de inmersión en soluciones acuosas como el etanol con crecientes concentraciones hasta poder llegar al anhídrido. En ese entender se llega a sumergir la muestra a una solución miscible de etanol y parafina, es decir como el xileno, proceso en el que se denomina aclaramiento. Una vez realizado el aclaramiento, se añade a la muestra en parafina líquida esto para disolverlo el xileno, y poder infiltrar en el tejido. La parafina al bajar la temperatura, se convierte en estado sólido, formándose en un taco, luego es sometido a los cortes histológicos cuidadosamente, (Charry J. *et al.*, 2011).

A pesar de realizar el proceso con bastante exactitud y cuidado, se produce ciertas modificaciones en el “taco”. Esto sucede porque el xileno y alcohol eliminan grasas, el proceso de aclaramiento en la inclusión se desactivan enzimas provocando una contracción considerable en el tejido. Para ellos existe técnicas de corte por congelamiento esto evita problemas adversos, (Charry J. *et al.*, 2011).

**1.2.7.3 Método de congelación-desección:** La intención en este método es llegar a una estructural variación y la eliminación química sea muy mínima, para preservar el desarrollo enzimática. Con el fin de congelar a mayor rapidez, el tejido se coloca en cámaras de vacío a bajas temperaturas y se deshidrata por un proceso de evaporación lenta del agua, (Charry J. *et al.*, 2011).

**1.2.7.4 Congelación-sustitución:** Se desarrolla a través de una fijación moderada por un proceso de tratamientos con azúcar; proseguida por una rápida congelación de la muestra, la deshidratación se da a  $-85^{\circ}\text{C}$  con metanol. Después de la deshidratación, la muestra es ubicado en una adecuada inclusión, luego viene la infiltración mientras se calienta gradualmente hasta llegar a un promedio de  $-20^{\circ}\text{C}$ . posteriormente se llegar a polimerizar a través de la irradiación ultravioleta en el medio de la inclusión una vez que esta seca. Se realiza los cortes cuidadosamente del taco para su observación en el microscopio. (Charry J. *et al.*, 2011)

**1.2.7.5 Coloración:** Mayormente los colorantes para muestras histológicas son de soluciones líquidas, por ello entonces, los cortes con inclusión de parafina tienen que ser desparafinados a través de la utilización del xileno, y rehidratarse con concentraciones mínimas de alcohol para proceder con la tinción. El corte se debe realizar por congelación después someterse a las soluciones líquidas. (Charry J. *et al.*, 2011)

Los métodos de tinción más conocida y comunes son a través del uso de eosina y hematoxilina que tiñen las composiciones nucleares de color azul violáceo, mientras que los componentes estructurales citoplasmáticos casi todas obtienen tonalidades rosadas. Después de la coloración llega la deshidratación y nuevamente se esclarece la muestra, se añade aceite de inmersión para su observación en el microscopio, (Charry J. *et al.*, 2011).

## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **2.1. ÁMBITO DE ESTUDIO:**

El presente trabajo de investigación se realizó en el fundo Virgen de Chapí, ubicado en el km 12 (carretera interoceánica Puerto Maldonado - Cusco)- distrito y provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios, a 176 m.s.n.m. Enmarcado entre los 11 02 48 y 13 1924 de latitud sur y 68 3913 y 72 1455 longitud oeste (Dirección Nacional de Demarcación Territorial, 2010). Los trabajos de laboratorio se realizaron en los de Biología e Histología de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, y la preparación de muestras histológicas para el diagnóstico en microscopía óptica se llevó en el laboratorio de Histopatología de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

**2.1.1 Descripción del fundo:** Cuenta con 60 hectáreas de pastizal para una población de 194 bovinos, zona húmeda donde se encuentran principalmente pastos como el brachiaria (*Brachiaria brizanta*), y otras variedades en mínima cantidad: India (*Panicum maximum*), Jaragua (*Hyparrhenia rufa*), Taiwán (*Pennisetum purpureum*), Caña de azúcar (*Sacharum officinarum*). Existe un local de ordeño para una capacidad de 20 vacas lecheras, con instalaciones de cuatro máquinas ordeñadoras con comederos, bebederos y mangas para la manipulación del ganado, (anexo 7). La Alimentación consiste en el suministro de sales minerales (Mikrofos® Ade), residuos de castaña y el pastoreo tradicional.

#### **2.2. MATERIALES, EQUIPOS:**

##### **A: Del Material Biológico:**

- **Antígenos:** Autovacunas preparadas, hemovacuna, clorobutanol 25%.
- **Muestras histopatológicas:** extracción de tejidos epiteliales con papilomas antes y después de la aplicación de los tratamientos.

##### **B: Del Material Instrumental:**

- **Reactivos:** Formalina, Lidocaína, Suero Fisiológico, Alcohol.
- **Materiales de laboratorio:** Centrifuga, Guantes quirúrgicos descartables, maso, mortero, vaso precipitado, jeringas de 10ml, papel filtro, agujas estériles N°21 x 1.
- **Otros:** Sogas, movilidad, mocheta, botas, libreta de apuntes, cámara digital, etc.

## 2.3. METODOLOGIA:

**2.3.1 Tamaño de muestra:** En el fundo ganadero Virgen de Chapi, distrito y provincia de Tambopata, cuenta con una población de 194 bovinos, con antecedentes del 16% de prevalencia de papilomatosis en regiones más cercanas según Puri., *et al* 2009.

Formula del Tamaño de Muestra según Rojas M., 2010:

$$N^{\circ} = \frac{Z^2 PQ}{E^2} \quad \Rightarrow \quad N = \frac{N^{\circ} M}{N^{\circ} + M - 1}$$

Dónde:

N= Tamaño de la muestra.

M = Población (194)

Z = 1.285 (90 % de confianza)

p = proporción de positivos (0,84)

q = proporción de negativos (0,16)

E = Precisión de la estimación (0,1)

$$N^{\circ} = \frac{1.285^2 \times (0.84) \times (0.16)}{0.1^2} = 22.2 \quad \Rightarrow \quad N = \frac{(22.2) \times (194)}{22.2 + 194 - 1} = 20$$

Tamaño de muestra = 20 bovinos con papilomatosis

**2.3.2 Diseño metodológico:** Se utilizaron 20 bovinos con Papilomatosis, las distribuciones de los animales en estudio fueron al azar formando 4 grupos compuestos por 5 animales:

**Tabla 1: Distribución de animales para cada tratamiento**

Tratamientos	N° de animales
Autovacunas (T1)	5
Hemovacunas(T2)	5
Clorobutanol (T3)	5
Testigo (T4)	5
TOTAL	20

*Fuente: Elaboración Propia*



El trabajo se realizó durante 2 meses y medio, de setiembre a noviembre del año 2016. Se efectuaron una ficha clínica de los 20 bovinos que comprendió la identificación de la edad, sexo, raza, condición corporal (Anexo1), asimismo se observó la ubicación y caracterización de verrugas en diferentes regiones del cuerpo del animal como en ubres, abdomen, cabeza, cuello, etc). Estos datos fueron registrados y evaluados posteriormente. Todos los animales fueron manejados junto a sus manadas bajo las mismas condiciones alimenticias y sanitarias. Después de la aplicación de los tratamientos se hizo un seguimiento y conteo de verrugas en días 15, 30, 60 respectivamente por cada animal (Anexo 3).

### **2.3.3 Toma de muestras para histopatología:**

Se recolectaron muestras de tejido epitelial con papilomas para la evaluación histopatológico. Se tomaron muestras de cada grupo, no fue necesaria la sedación, se colocó en formalina al 10% protegido en envases identificados (anexo 8). Posteriormente fueron enviados a al laboratorio de Histopatología Veterinaria de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno; donde se hizo la preparación de muestras histológicas con tinción de Hematoxilina-Eosina para el diagnóstico en microscopia óptica. La extracción se realizó dos veces durante el proceso de la ejecución; el primero fue antes de la aplicación de los tratamientos (día 0), y el segundo fue al final de la evaluación (en el día 60).

### **2.3.4. Descripción de los tratamientos evaluados:**

**2.3.4.1 Tratamiento I (autovacunas).**- Se utilizaron 5 animales a los que se les aplicó autovacunas con dosis de 10ml x 200 kg /pv. vía subcutánea en el día 0 y repetido a los 8 días, (anexo11). La autovacuna se preparó con papilomas de animales específicos con diferentes tamaños y localizaciones anatómicas, la cual se extirparon quirúrgicamente con ayuda de pinzas de disección dentada y bisturí, se extrajo 5 a10 gr de papilomas por cada animal, (anexo 9).

Debido a la existencia de diferentes serotipos del virus afectando al mismo individuo, se extrae papilomas de diferentes partes del cuerpo de los animales, para elaborar la autovacuna se toman papilomas más antiguos, pues los virus ese encuentran presentes con mayor concentración los tejidos epiteliales que en las más recientes (Radostitis O. *et al.*, 2002).

Se sumergieron en una suspensión de formalina al 10% y se transportó al laboratorio de Biología UNAMAD donde se dejó refrigerado durante un día, posteriormente con un mazo y mortero de porcelana se hizo la trituración en partículas diminutas, se le agregó 15 ml de suero fisiológico; luego se dejaron reposar por 24 horas a temperatura ambiente hasta llegar a la maceración, se hizo la filtración para la centrifugación en 1000 r.p.m. se extrajo el líquido sobrenadante en el que se añadió antibiótico (amoxicilina) para contrarrestar cualquier agente infeccioso, finalmente se hizo el envasado en recipiente estéril de vidrio transparente en el que contuvo 10-20 ml, (anexo 10). Esto se realizó para cada animal sometido a la autovacuna.

Se ha comprobado que las autovacunas individuo específica es más eficaz que especie específica porque es producida con una cepa productora de la enfermedad (Puri O. 2009)

**2.3.4.2 Tratamiento II (Hemovacuna):** Con una jeringa se extrajo sangre en una dosis de 10 ml x 200 kg /pv. Para cada Animal, la extracción sanguínea fue de la vena coccígea y/o de la vena yugular, después de obtener el promedio indicado se le suministro por vía intramuscular al instante (no se utilizaron anticoagulantes), a los 8 días se realizó el mismo método, (anexo 12).

**2.3.4.3 Tratamiento III (Clorobutanol 25%):** Lo encontramos en tratamientos comerciales, su composición es de 25g de clorobutanol en 100 ml de excipientes, se administró vía sud cutánea en una dosis de 5 ml x 200 kg/pv. dos veces cada 8 días, (anexo 13).

**2.3.4.4 Tratamiento IV (Testigo):** Se le suministro suero fisiológico en una dosis de 10 ml por cada animal, dos veces cada 8 días, (anexo 14).

## **2.4 EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS:**

**2.4.5.1 Recolección de datos:** La respuesta al tratamiento fue evaluados en los días 0, 15, 30 y 60 después de la primera inoculación. La recolección de datos se realizó mediante formato de observación que se llevó un conteo del número total de papilomas en general por cada animal, lo que permitió definir la efectividad de los tratamientos, (Anexos 3, 4, 5, 6).

**2.4.5.2 Análisis Estadístico:** La determinación de la efectividad de los tratamientos se halló mediante la siguiente fórmula:

Fórmula para hallar la efectividad del tratamiento Según Cerda S. *et al.* 2015.

$$E = \left( \frac{\text{CPC}}{\text{CPI}} \times 100 \right) - 100$$

E : efectividad del tratamiento

CPC : cantidad de papilomas controlados

CPI : cantidad de papilomas iniciales

Para hallar las diferencias significativas del resultado de la efectividad de los tratamientos se utilizó el ensayo del diseño completamente aleatorio (DCA) en los 0, 15, 30 y 60 días de evaluación.

Formula Estadística (Castillo C. 2011):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} ,$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = Observación correspondiente a la variable dependiente, número de verrugas.

$\mu$  = Media general de las variables evaluadas.

$T_i$  = Efecto del  $i$  – ésimo tratamientos.

$E_{ij}$  = Error experimental.

Se realizó Análisis de Varianza (ANVA); para evaluar como variables independientes los tratamientos y la efectividad, cuando se determinó diferencia significativa o altamente significativa se hicieron pruebas de diferencias de medias usando la prueba de Tukey, cuya fórmula es la siguiente:

Formula de la Prueba de Tukey (Morillas A. 2012):

$$w = Q_{5\%} \frac{\sqrt{\text{CME}}}{R}$$

Dónde:

Q = Valor de la tabla de Tukey 5%

R = Número de repeticiones

CME = Cuadrado medio del error

Para determinar la hipótesis planteada de nuestro experimento se evaluó a través de la prueba del chi cuadrado.

Formula del Chi cuadrado (Kaps and Lamberson, 2010)

$$X^2 = \sum (o_i - e_i)^2 / e_i$$

$X^2$  = Es la chi cuadrada calculada

$O_i$  = Es la frecuencia observada en la i-ésima fila, j-ésima columna

$e_i$  = Es la frecuencia esperada en la i-ésima fila, j-ésima columna

Para determinar el costo por animal invertidos de cada tratamiento se halló mediante la siguiente formula según Sachs J. 2005.

CU= costo unitario

N°p= número de animales

Ct= precios invertidos

## CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS:

La efectividad se define como la capacidad de lograr el resultado deseado o esperado en condiciones reales de actuación que difieren de las condiciones óptimas; también manifiesta la validez de lo real y verdadero (García J. 2011).

Tabla 2:

#### **Presencia de Papilomas en Bovinos sometidos a los Tratamientos.**

Tratamientos	Numero de papilomas en el día 0					total papilomas
	bovino1	bovino2	bovino3	bovino4	bovino5	
Autovacuna (T1)	20	15	25	8	10	78
Hemovacuna(T2)	14	25	16	14	5	74
Clorbutanol (T3)	10	25	14	16	25	90
Testigo (T4)	14	12	25	30	10	91

Grupos homogéneos en un nivel de significancia de  $p < 0.005$

*Fuente: Elaboración Propia*

En la tabla 2, se presenta los conteos iniciales de papilomas en animales seleccionados para cada tratamiento. Al ser sometidos al análisis de varianza se obtuvo diferencias entre los grupos en un nivel de significación de  $P < 0.005$ , en la prueba de Tukey se pudo definir que los grupos eran homogéneos, siendo objeto de comparación (anexo 4).

La efectividad de los tratamientos se evalúa a partir del día 15; los resultados se detallan en la tabla 2. Las Autovacunas (T1) llegan a un 41 % de efectividad, seguidos por el Clorobutanol (T3) que se obtuvo 37 %; con un nivel de significancia  $P < 0.001$ , se comprueba que los tratamientos con Autovacunas y Clorobutanol son estadísticamente iguales y tienen mayor efectividad que los otros tratamientos (anexo 5). Las Hemovacunas (T2) llegaron a 20 % de efectividad es menor que el T1 y T3. Por otro lado, el crecimiento promedio más bajo es el testigo (T4)

Tabla 3:

#### **Efectividad de los Tratamientos en el día 15, en Bovinos con Papilomatosis.**

Tratamientos	Presencia de papilomas en el día 15					total papilomas	Efectividad %
	bovino1	bovino2	bovino3	bovino4	bovino5		
Autovacuna (T1)	10	8	15	4	8	45	41%
Hemovacuna (T2)	10	18	10	13	5	56	20%
Clorbutanol (T3)	7	15	7	10	18	57	37%
Testigo (T4)	13	12	25	35	15	100	0%

T1 y T3 estadísticamente iguales, tienen > efectividad que el T2 y T4.  $p < 0.001$  *Fuente: Elaboración Propia*

El resultado coincide con el estudio de Downs D. *et al.*, 2008; afirma que hay disminución de verrugas de forma gradual a partir del día 17 en tratamientos con autovacunas y clorobutanol; siendo los mayores efectos de recuperación en lesiones de mayor tamaño.

Las Autovacunas y el Clorobutanol, siguen su curso como tratamientos de mayor crecimiento en promedio en los días 30; los resultados se detallan en la tabla 3. Al ser sometidos al análisis de varianza se determina que tienen diferencias altamente significativas ( $P < 0.001$ ), respectivamente en la prueba de Tukey se comprueba que los T1 y T3 obtienen 64% y 62%, estadísticamente son iguales y tienen mayor efectividad que los otros tratamientos (anexo 6). El T2 obtuvo 47 % y fue menos efectivo que el T1 y T3. Por otro lado el crecimiento promedio más bajo es el testigo (T4).

Tabla 4:

**Resultados de la Efectividad de los Tratamientos en el día 30, en Bovinos con Papilomatosis.**

Tratamientos	Presencia de papilomas en el día 30					total papilomas	efectividad %
	bovino1	bovino2	bovino3	bovino4	bovino5		
Autovacuna (T1)	6	4	8	3	5	26	64%
Hemovacuna (T2)	8	10	7	9	3	37	47%
Clorbutanol (T3)	3	10	3	7	13	36	62%
Testigo (T4)	13	11	29	34	14	101	0%

T1, T3 iguales estadísticamente, con > efectividad que los T2 y T4,  $p < 0.001$  *Fuente: Elaboración propia*

Las autovacunas son de mayor efectividad, coincidiendo así con los estudios de Cerda S. *et al.* 2015, donde afirma que la pérdida de papilomas con tratamientos a través de autovacunas fue positiva durante el día 28 de evaluación, obteniendo 29 % de efectividad.

La evaluación del día 60 se detalla en la tabla 4, Se determina mediante el Análisis de Varianza las diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), respectivamente al ser comparados en la prueba de Tukey, las Autovacunas y Clorobutanol obtienen 97% y 92% respectivamente estadísticamente son iguales y tienen mayor efectividad que los otros tratamientos (anexo7). Las Hemovacunas obtuvieron 78% de efectividad muy inferior al T1 y el T3, mientras que el testigo (T4) se mantiene sin efectividad.

Según la clasificación de Satín A. *et al.*, 2004; se define que el T1 y el T3 son tratamientos eficaces; por superar el 85 % de efectividad. Mientras que el T2 por superar el 65 % de efectividad se considera respuesta buena. El T4 (testigo) por no tener efectividad se considera ineficaz.

Tabla 5:

**Resultados de la Efectividad de los Tratamientos en el día 60, en Bovinos con Papilomatosis.**

<u>Tratamiento</u>	<u>Presencia de papilomas en el día 60</u>					<u>total papilomas</u>	<u>efectividad %</u>
	<u>bovino1</u>	<u>bovino2</u>	<u>bovino3</u>	<u>bovino 4</u>	<u>bovino5</u>		
Autovacuna (T1)	1	0	4	0	0	5	96%
Hemovacuna (T2)	6	3	2	2	1	14	80%
Clorbutanol (T3)	0	4	0	3	4	11	90%
Testigo (T4)	14	14	32	37	20	117	0%

T1 y T3 iguales estadísticamente, tienen > efectividad que el T2 y T4,  $p < 0.001$  Fuente: Elaboración propia

Según los resultados, las autovacuna y clorobutanol son estadísticamente iguales en un nivel de significancia del  $P < 0.001$  y tienen una efectividad por encima de los 84%; Coincidiendo así con el estudio de Zaldivar, *et al* 2014; donde evalúa la eficacia de las autovacunas con determinación de la dosis; concluye que la autovacuna preparada a partir de la lesión papilomatosa, constituye un tratamiento eficaz observándose un 85 % de recuperación, siendo la dosis más indicada en 10 ml. Rodríguez R. *et al.*, 2015; realiza un estudio similar sobre el control de la papilomatosis bovina; y concluye que el tratamiento con autovacunas + ivermectina (como inmunoestimulante), constituye un control eficaz, dando como resultado un 89 % de efectividad. Montaña P, *et al.*, 2006; concluye también que la efectividad porcentual de cuatro tratamientos evaluados; fueron el esquema de átomo papilomatosis (Autovacuna) y el de clorobutanol + hemoterapia, los más efectivos. Nuestros resultados no coinciden con los obtenidos por Peña *et al* 2005, donde los animales se recuperaron a los 40 días de haber aplicado el tratamiento. En los estudios de Downs D. *et al.*, 2008, a los 90 días de evaluación post tratamiento los animales se encontraban al 100% curados y que no existían diferencias significativas entre tratamientos con autovacunas y el clorobutanol. Nuestro experimento duro 60 días, pero si la evaluación hubiera sido programada a 90 días; los resultados serían similares a Downs, esto por la descendencia del número de papilomas respecto a mayor tiempo.

Se considera que el tratamiento con Hemovacuna son los que menor eficacia se obtuvieron, coincidiendo así con el estudio de Satín A. y Brito L. 2004; donde logro una eficacia de solo el 50% en la aplicación de sangre sin anticoagulante. Según la definición de Delgado A. 2003, La hemovacuna que es obtenida sangre de la vena, y aplicada intramuscularmente, es metabolizada y tomada por las células encargadas de la fagocitosis, de manera que se inicia una respuesta inmune, que es apoyada por los metabolitos de la sangre, por eso que algunas

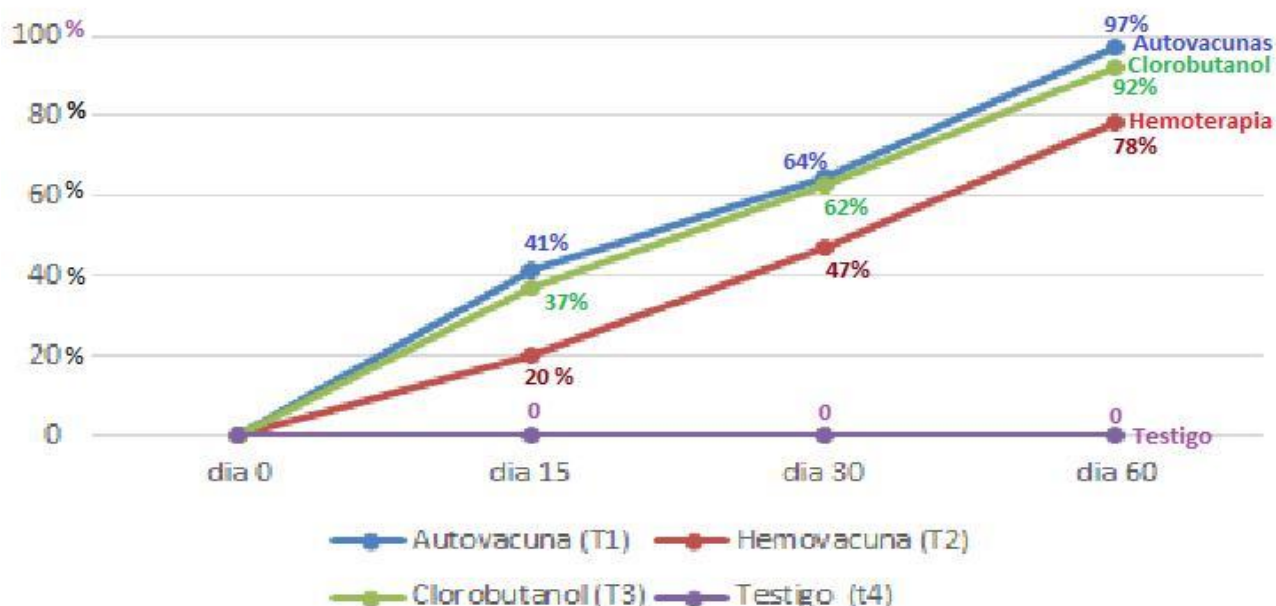
verrugas caen. Según Charry J. *et al.*, 2011, la utilización de la hemoterapia muestra como un tratamiento tradicional y los resultados no es efectiva, pues las lesiones no llegan a desaparecer. Además, menciona que hay estudios en los que se ha detectado ADN viral a nivel de sangre, lo que significa, que este método es más bien un modo de transmisión de la enfermedad y de otras enfermedades, por otro lado, cabe señalar que la hemovacuna es específica; pues allí no existe el riesgo de transmisión a otros animales. Muchos de las propiedades ganaderas en la provincia de Tambopata acostumbran este método, por la razón de que el costo es muy reducido.

Haciendo un análisis entre estos, la efectividad del tratamiento puede depender de factores internos como el nivel de inmunidad, edad, enfermedades secundarias, entre otros y factores externos como clima, alimentación, manejo, dosis. La variabilidad de resultados comparando con otros estudios, indican que el tratamiento efectivo contra la papilomatosis bovina es relativa, por el hecho de ser enfermedad con agentes múltiples etiológicos, es poco conocida especificidad, es así que la papilomatosis bovina se han identificado hasta 6 tipos de virus: virus d(VPB-1), (VPB-2) y (VPB5) que principalmente causan fibropapilomas y (VPB-3), (VPB-4) y (VPB-6) que producen enormes papilomas en el epitelio estratificado. Estos diferentes tipos de virus presentan especificidad o predilección por una su forma o determinada localización corporal, por ello merecen realizarse tratamientos específicos. Pues resultados antagónicos de variabilidades de estudios sobre su tratamiento con Autovacuna, se puede haber dado por las condiciones diferentes de manejo, sanidad y alimentación de los animales, ya que factores como la nutrición, estres o la presencia de parásitos externos e internos entre otros, pueden influir en la respuesta inmune del bovino.

Se observaron bovinos con presencia de papilomatosis eran también infestados en su gran mayoría por garrapatas. Puri O. 2009, menciona que la diseminación de la papilomatosis bovina es mucho mayor en fundos donde existe mucha exposición a las garrapatas, esto llama la atención por lo que demuestra una cierta relación aun no sugerida científicamente, es parte de la premisa. El *Boophilus microplus*, es la garrapata más relevante en nuestra Amazonia.



### Comportamiento de la Efectividad de los Tratamientos en Relación al Tiempo.



**Figura N° 1**

*Fuente: Elaboración Propia*

En la Figura 1, representa el comportamiento positivo de la efectividad de los tratamientos a medida que avanza el tiempo, los porcentajes de los tres tratamientos evaluados difirieron significativamente ( $p < 0.001$ ): donde se muestra un comportamiento positivo en el T1, T2 y T3, lo que explica que a medida que disminuye la cantidad de papilomas en los animales, aumenta la efectividad de los tratamientos. En el T4 (testigo) se observa que no hubo efectividad positiva en todo el tiempo de estudio; demostrando que la regresión al estado normal del animal (animales curados), depende de los T1, T2, T3. El estudio coincide con lo reportado por Downs D. *et al.*, 2008 y Cerda S. *et al.* 2015 quienes obtuvieron un comportamiento descendente en el número de papilomas con respecto al tiempo. No se pudo observar ningún signo colateral clínico por efecto de la aplicación de los tratamientos durante todo el tiempo de estudio, coincidiendo así con los estudios de Rodríguez R. *et al.*, 2015.

Tabla 6:

#### Resultado de animales tratados según el nivel de Efectividad

Tratamiento	ineficaz	regular	bueno	eficaz	total animales
Autovacuna (T1)	0	0	1	4	5
Hemovacuna (T2)	0	1	1	3	5
Clorbutanol (T3)	0	1	2	2	5
Testigo (T4)	5	0	0	0	5
<b>Total animales</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>20</b>

Según la clasificación de Satin A. *et al* 2004

*Fuente: Elaboración Propia*

La clasificación respecto a la efectividad según Satín A. *et al.*, 2004, se detalla en la tabla 5. De 5 animales sometidos al tratamiento con Autovacunas; 4 llegaron a curarse eficazmente esto indica que tiene mayor número de animales curados respecto a los otros tratamientos. Los tratamientos sometidos con Hemovacunas; 3 llegaron a curarse eficazmente, los dos restantes tuvieron buena y regular efectividad terapéutica. Los tratamientos sometidos con clorobutanol; 2 llegaron a curarse eficazmente, 2 tuvieron buena efectividad y solo 1 tuvo de regular efectividad. Mientras que en el T4 (testigo) los 5 animales obtuvieron resultados ineficaces; indicando que no hubo respuesta al tratamiento.

La determinación de la hipótesis se realiza mediante la clasificación de la efectividad de los tratamientos de la Tabla 5, con el fin de validar nuestra hipótesis planteada que se determina a través de la evaluación del Chi cuadrado respectivamente.

Tabla 7:

**Determinación de la Hipótesis Planteada.**

	<u>Valor</u>	<u>Grado de Libertad</u>	<u><math>x^2_{cal} \neq x^2_{tab}</math></u>
Chi cuadrado de Pearson	22.89		$22.89 > 21.66$
N° de casos validos	20	9	

$x^2$  Calculado es mayor que  $x^2$  tabulado.  $P < 0.001$ .

*Fuente: Elaboración Propia*

En el análisis del valor experimental el resultado se expresa en 22.89, supera al valor crítico de la tabla del chi cuadrado donde representa el valor de 21.6 con un grado de libertad de 9 en un nivel de significancia de  $P < 0.001$ . Lo que explica que rechazamos la hipótesis nula y se acepta nuestra hipótesis planteada bajo el mismo nivel de significación. Quiere decir que la eficacia en el control de la papilomatosis bovina depende de los tratamientos utilizados en nuestro estudio.

### **3.2 EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS.**

Las imágenes que se presenta a continuación fueron captadas de láminas histopatológicas elaborados en el laboratorio de Histología de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, estas laminas fueron elaborados atreves de las muestras extraidas de tejidos epiteliales con papilomas de animales que fueron sometidos al estudio durante dos periodos; la primera muestra fue extraída antes de la aplicación de los tratamientos (día 0) y la segunda muestra fue en el día 60 después de la aplicación de los tratamientos.

#### **3.2.1 Evaluación Histopatológica del Tratamiento I (autovacunas):**

La presentación de la Figura 2 (del grupo de tratamientos con autovacunas), muestra el tejido epitelial de un bovino de raza criolla, hembra con edad de 14 meses. La extracción del tejido fue de la región cervical con presencia de papilomas, la recolección de muestras se hizo ante de la aplicación del tratamiento.

**Vista de un Epitelio Plano Estratificado con presencia de Células Neoplásicas, observado en el Microscopio a un aumento de 40x.**

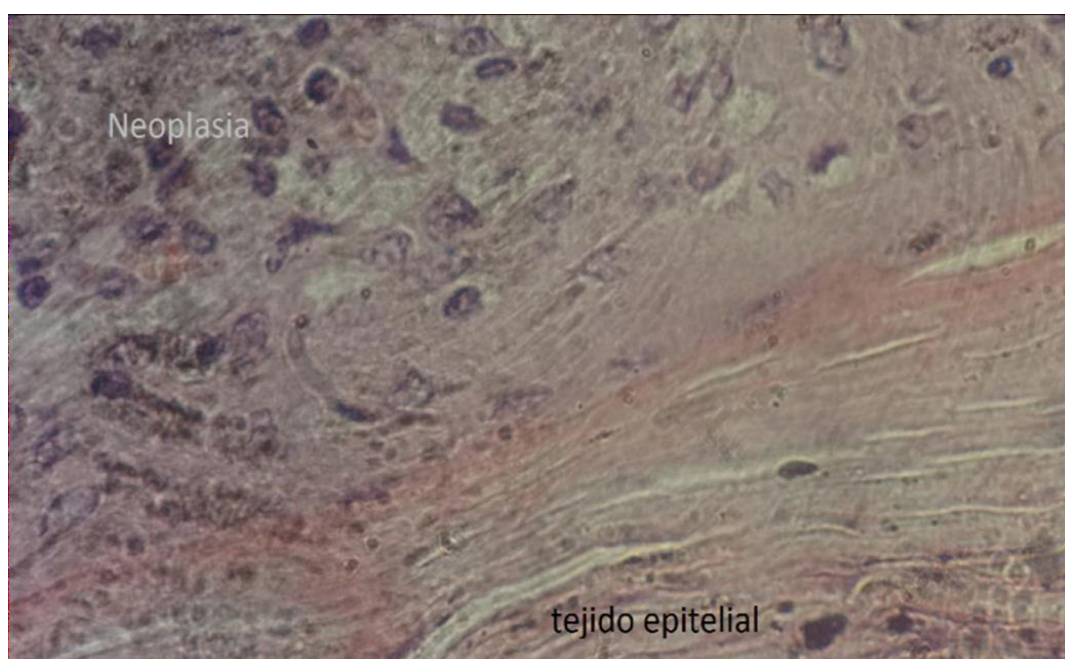


Figura N° 2.

*Fuente: Elaboración Propia*

En la parte superior muestra células neoplásicas de papilomas que cubre toda la capa estructural del epitelio. Se aprecia la proliferación de células del estrato basal espinoso y granular con núcleos ovals hiper cromáticos, con presencia de células de degeneración balanoide hinchadas, con el citoplasma claro.

La presentación de la Figura 3; muestra el tejido epitelial del mismo bovino de la imagen 1, la extracción del tejido fue de la región cervical en el punto donde hubo desaparición de papilomas durante el día 60 de evaluación.

**Vista de un Epitelio Estratificado Escamoso Queratinizado, observado en el microscopio a un aumento de 40x.**

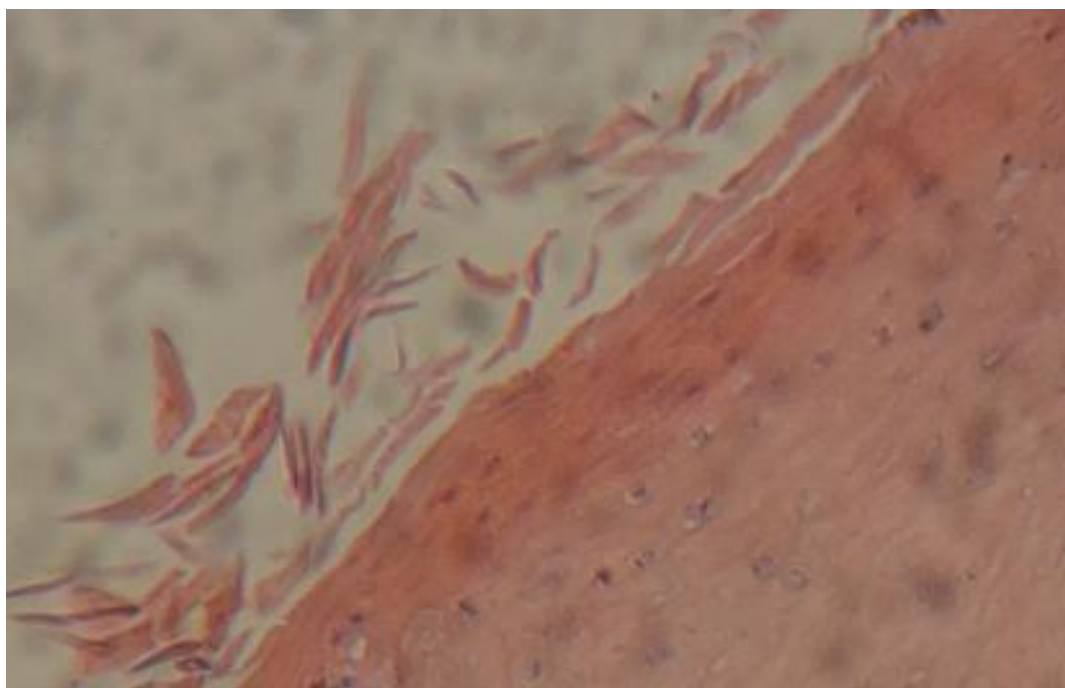


Figura N° 3.

*Fuente: Elaboración Propia*

En la Figura se aprecia un epitelio estratificado escamoso queratinizado, característico de una epidermis casi normal, comparando con la imagen 1 se puede observar la desaparición de células neoplásicas. Se afirma que la efectividad del tratamiento con autovacunas es positiva.

Se define que la respuesta inmune hacia la infección por Virus del Papiloma Bovino es pobre, por lo que produce una respuesta inmunológica prolongada y muy pronta cuando los bovinos son inmunizados con proteínas virales del Papiloma Bovino, conllevando al

un desarrollo exitoso de las vacunas antipapilomatosas, las autovacunas ocasionalmente ayuda en la producción de anticuerpos que llegan a neutralizar al virus y brinda también una completa protección contra desafíos subsecuente. Sin embargo, estas autovacunas confieren protección de manera específica sólo contra el virus del mismo hospedero (Campo M., 2006).

### 3.2.2 Evaluación Histopatológica del Tratamiento II (Hemovacuna):

La presentación de la Figura 4 (del grupo de tratamientos con Hemovacunas), muestra un tejido de la epidermis con presencia de papilomas, de un bovino de raza criollo, macho de 14 meses de edad. La extracción del tejido fue de la región cervical antes de la aplicación del tratamiento con Hemovacuna.

#### Vista de un Epitelio Plano Estratificado con presencia de Células Neoplásicas, observado en el Microscopio a un aumento de 10x

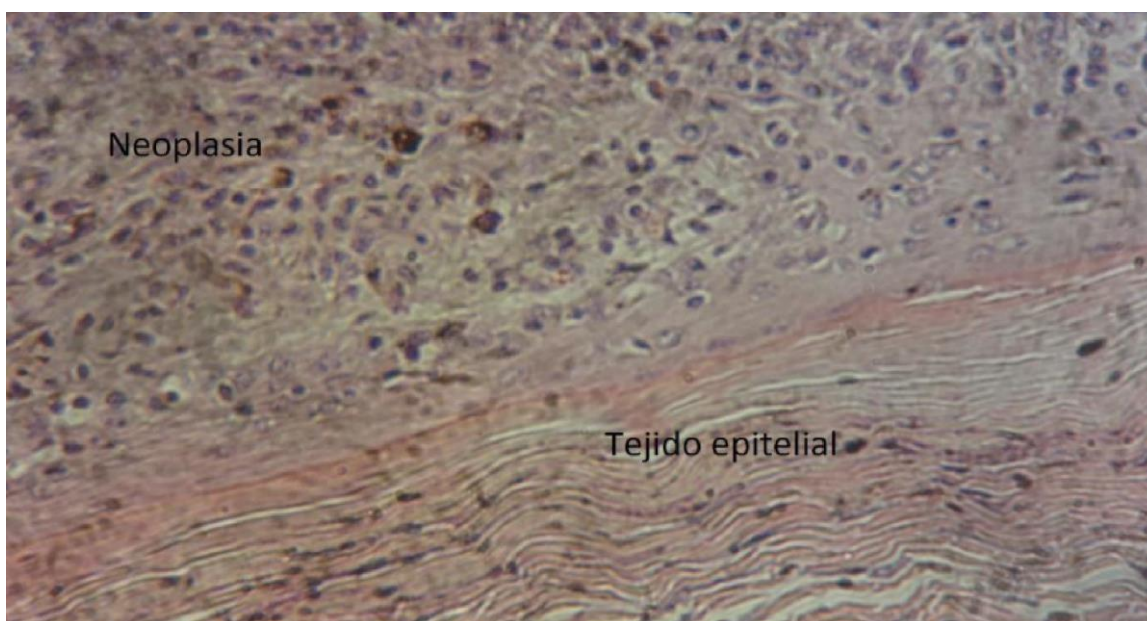


Figura N° 4.

*Fuente: Elaboración Propia*

Similar a la Figura 2; la parte superior muestra células neoplásicas de papilomas cubriendo la capa estructural de la dermis que se encuentra en la parte inferior, existe la proliferación de células del estrato basal, con núcleos ovales hiper-cromáticos, presencia de células con degeneración balanoide hinchadas y el citoplasma claro, se muestran de manera pseudoestratificadas. La presentación de la imagen 4 muestra el tejido epitelial del mismo



bovino de la imagen 1, la extracción del tejido fue de la región cervical en el punto donde hubo desaparición de papilomas en el día 60.

**Vista de un Epitelio Estratificado Escamoso Queratinizados, observado en el Microscopio a un aumento de 40x.**

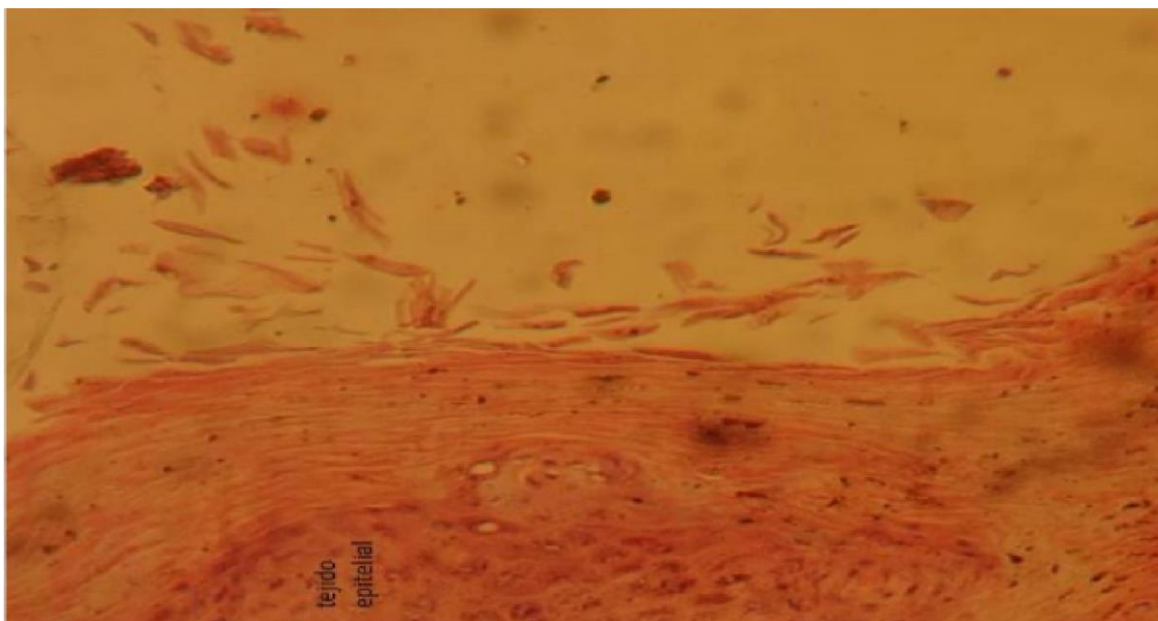


Figura N° 5.

*Fuente: Elaboración Propia*

Similar a la Figura 3, muestra un epitelio estratificado escamoso queratinizado, se puede observar la desaparición de células neoplásicas de papilomatosis. Se afirma que la efectividad del tratamiento con hemovacunas es positiva. Una autohemoterapia promueve estímulos proteícos de manera inespecífico. Los productos que promueven la degradación eritrocítica son bien conocidos por brindar estímulos en la eritropoyesis y el sistema inmune normal, permitiendo así la manutención de la homeostasis. El sistema inmunológico es activado comenzando en producir anticuerpos contra el virus del papiloma, lo que lleva a la eliminación prolongada de la enfermedad, (Lobato Z y Birgel J, 2000).

### **3.2.3 Evaluación Histopatológica del Tratamiento III (Clorobutanol):**

La presentación de la Figura 6, (para el grupo de tratamientos con clorobutanol), muestra el tejido de la epidermis de un bovino con presencia de papilomas, el animal es de raza Holstein, hembra de 20 meses de edad. La extracción del tejido fue de la región cervical antes de la aplicación del tratamiento.

**Vista de un Epitelio Plano Estratificado con presencia de Células Neoplásica, observado en el Microscopio a un aumento de 10x.**

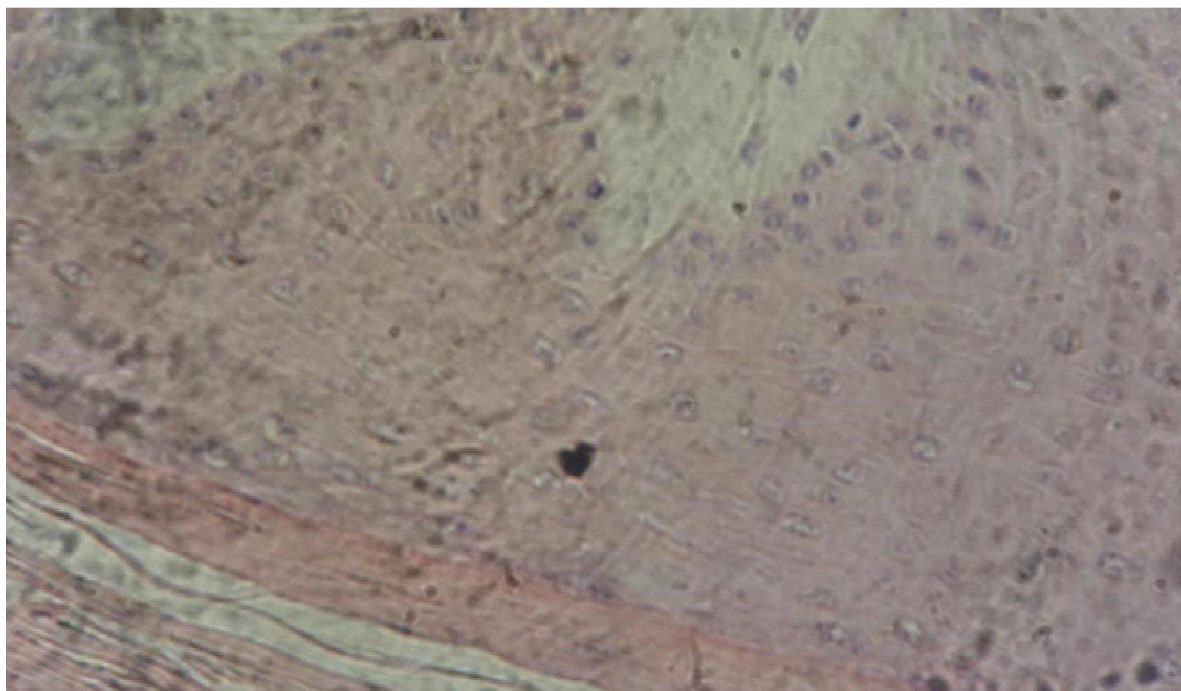


Figura N° 6.

*Fuente: Elaboración Propia*

En la parte superior de la figura 6 se muestra células neoplásicas de papilomas cubriendo la capa estructural del epitelio. Existe la proliferación de células del estrato basal, espinoso y granular con núcleos ovales hipercromáticos y la presencia de los citoplasmas de una coloración clara.

La presentación de la Figura 7 muestra el tejido epitelial del mismo bovino de la Figura 6, la extracción del tejido fue de la región cervical en el día 60 después de la aplicación del tratamiento con clorobutanol. En la Figura se aprecia un epitelio estratificado escamoso queratinizado, donde aún hay presencia de células neoplásicas de papilomatosis, existe una regeneración parcial del tejido al estado normal. Se afirma que la efectividad del tratamiento con Clorobutanol 25%; es positiva.

El clorobutanol, que es la base del producto comercial más difundido en el mercado por su efectividad, actúa principalmente en el metabolismo del virus del Papilomatosis impidiendo su desarrollo y multiplicación del virus, (Iglesias A., 2004).

**Vista de un Epitelio Estratificado Escamoso Queratinizado, observado en el Microscopio a un aumento de 40x**

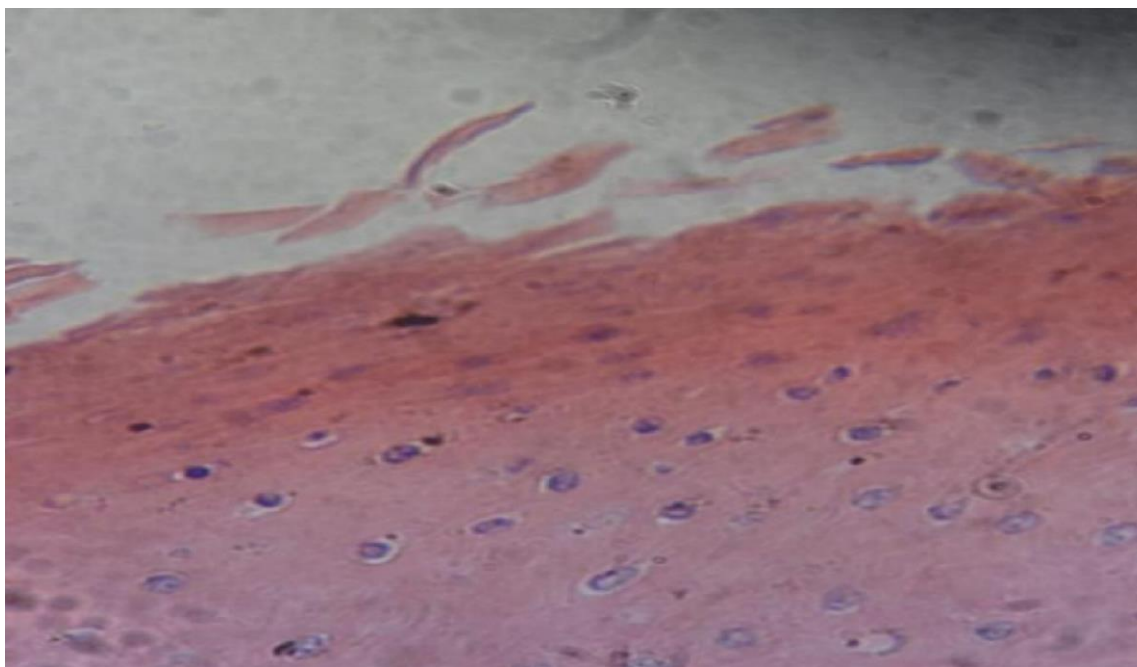


Figura N° 7.

*Fuente: Elaboración Propia*

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 R. *et al.*, 2014).

En la revisión histológica se apreció la proliferación de células del estrato basal, similar al estudio de Rodríguez R. *et al.*, 2015; donde menciona que la proliferación de células neoplásicas inicia en el estrato basal de la epidermis, con características de núcleos ovales hipercromáticos y nucléolos prominente, donde hay presencia de células con degeneración balanoide hinchadas, con 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, similares a las imágenes evaluadas. Según Megias M. *et al* 2016; El epitelio estratificado escamoso queratinizado o el epitelio estratificado plano queratinizado es muy característico de la epidermis de todos los vertebrados terrestres, El estrato germinativo o estrato basal está formado sola por una capa de células que descansan sobre la lámina basal.



En dicha capa están cubiertas por células madre epiteliales que por división y diferenciación darán origen a los queratinocitos dentro de las capas superiores, algo muy particular donde se aprecia en nuestras imágenes a los 60 días de evaluación.

### 3.3. RESULTADO DE COSTOS:

#### Costo Unitario de los Tratamientos para la Papilomatosis Bovina.

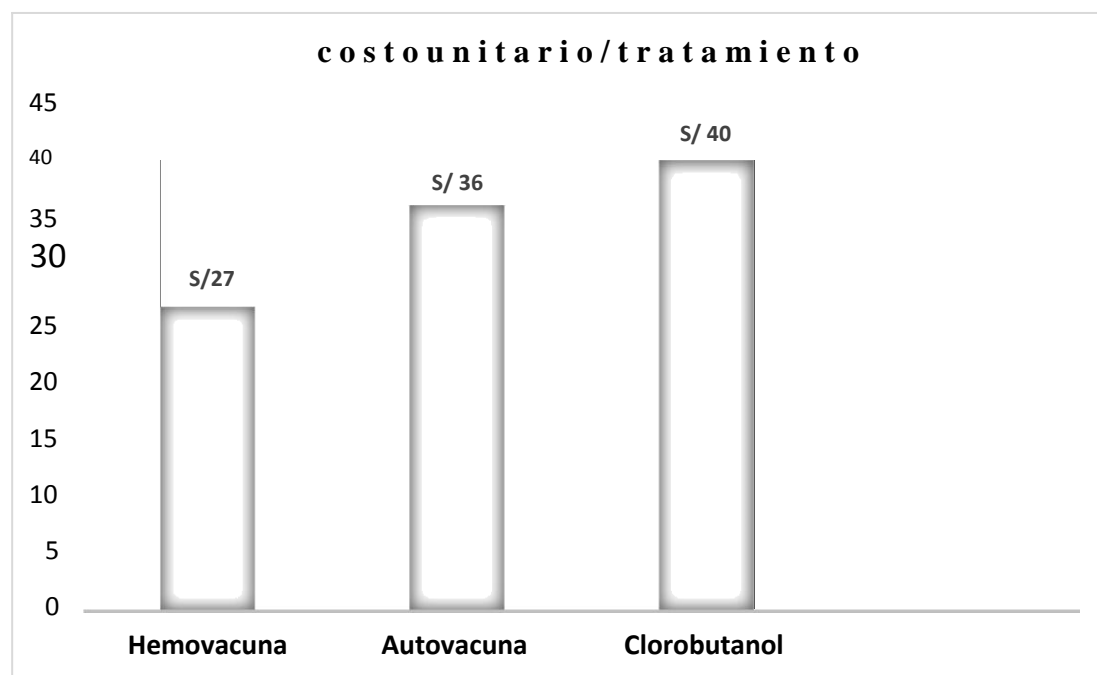


Figura N° 8.

*Fuente: Elaboración Propia*

Se considera gasto invertido por un animal en cada tratamiento durante la ejecución, el tratamiento que genere menor gasto fueron las hemovacunas resultando un gasto de S/. 27 soles por animal, seguido de la autovacuna que genero un gasto de S/. 36 soles, el de mayor costo fueron el tratamiento con clorobutanol (Tratamiento comercial) generando un gasto de S/. 40 soles por animal. El tratamiento económico en relación a menor costo y mayor efectividad se encuentra en las autovacunas, coincidiendo así con los estudios de Montañó P, *et al.*, 2006.

## CONCLUSIONES

- Las Autovacunas y el Clorobutanol son tratamientos con mayor efectividad, resultando 97% y 92 % respectivamente, estadísticamente no tienen diferencias significativas ( $P < 0.001$ ).
- Las Hemovacuna tiene menor eficacia que las autovacunas y el clorobutanol, resultando 87% de efectividad, con diferencias altamente significativas ( $P < 0.001$ ).
- La regresión histológica a su estado normal en tejidos neoplásicos con papilomatosis; fueron positivos en los tratamientos con Autovacunas, Clorobutanol y Hemovacuna en el día 60 de evaluación
- El tratamiento económico en relación a menor costo y mayor eficacia se encuentra en las autovacunas.

## RECOMENDACIONES

- Realizar tratamientos con autovacuna, en dosis de 10ml x 200 kg /pv. 2 veces cada 8 dias, como alternativa de diseminación de la papilomatosis bovina en el distrito de Tambopata.
- Las autovacunas son individuo específico, quiere decir que el preparado es en base del mismo animal con papilomatosis.
- Se recomienda realizar estudios epidemiológicos de la papilomatosis bovina, para poder establecer normas más adecuadas en el control de la enfermedad.
- Se debe realizar estudios sobre la relación entre garrapatas y papilomatosis, debido a que en la mayoría de animales con papilomas se encontraban parasitados con garrapatas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Araldi R, Carvalho R, Melo T, Diniz N, Sant T, Mazzuchelli J, Spadacci D, Becak W, Stocco R. 2014. Bovine papillomavirus in beef cattle: first description of BPV-12 and putative type BAPV8 in Brazil. *Genetic Molecular*.
2. Batista, P. 2002. Elaboración de medicamento contra la Papilomatosis viral del ganado vacuno.
3. Bernard *et al.*, 2010. Tumor stimulator cell modification by infection with Newcastle Disease Virus: analysis of effects and mechanism in MLTC-CML cultures.
4. Castillo C, Mejía C, J Arévalo J, Estadística, 2011. *Matemática Computación – Centroamerica*.
5. Carvalho C, Freitas AC, Brunner O, Goes LGB, Cavalcance AY, Becak W, Stocco dos Santos rc. Bovine papillomavirus type 2 in reproductive tract and gametes of slaughtered bovine females. *Brazilian Journal of Microbiology*.
6. Campo MS. 2002. Animal models of papillomavirus pathogenesis. *Virus Research*
7. Campo M.S. 2006. Bovine papillomavirus: old system, new lessons? In: Campo, M.S. ed. *Papillomavirus Research: From natural history to vaccine and beyond*.
8. Cano J. 2002; *Papilomatosis Definicion, Mexico - UNAM*.
9. Ceballos M. 2010. *Clinica de los Bovinos. Mexico: UNAM*.
10. Cerda S. Borge E, 2015. Evaluación de la efectividad de dos tratamientos terapéuticos en el control de Papilomatosis bovina en terneros de la Finca La Lucha del municipio de Camoapa departamento de Boaco - Nicaragua.
11. Charry J, Hinojosa M. 2011. Estudio de la papilomatosis bovina en cinco propiedades de ganadería de leche, en el Cantón Pedro Vicente Maldonado en la provincia de pichincha - Chile.
12. Claus M, Lunardi M, Alfieri AF, Sartori D, Fungaro H y Alfieri A. "Identification of the recently described new type of bovine papillomavirus (BPV-8) in a Brazilian beef cattle herd." *Pesq. Vet. Bras*. 2009.
13. Da Silva LAF, Santin API, Fioravanti MCS, Dias Filho FC, Eurides D. 2004. Papilomatose bovina: comparação e avaliação de diferentes tratamentos. *Hora Veterinária*.
14. De Villers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, Zur-Hausen H. 2004. *Classification of papilomaviruses, Virology*.

15. Delgado, A. 2003 Origen de las verrugas en bovino. Foro de Bubas (verrugas) en Bovino.
16. Dirkson G, Grunder H-D, Stober M. 2005. Medicina Interna y Cirugia del Bovino,
17. Downs N, Arcia I. ( 2008). Aplicación de histovacuna para el tratamiento de Papilomatosis Bovina en el municipio de Nueva Guinea, Departamento de la RAAS. Managua, Nicaragua.
18. Eisa MI, Kandeel A, El-Sawalhy AA, Abouel-Fetouh MS. 2000. Some studies on bovine papilloma virus infection in cattle with trials of its treatment. Veterinary Medicine Journal Giza.
19. Freitas AC, Silva MAR. Carvalho CCR. Birgel-Jr. EH. dos Santos JF. Becak W. Stocco dos Santos RC. 2007. Papillomavirus DNA detection in non epithelial tissues: a discussion about bovine papillomavirus. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology A. Méndez-Vilas (Ed.)
20. Garcea, R, Di Maio D. "The Papillomaviruses". Springer Sciences y Business Media.
21. García Villarreal, J. 2011. Eficiencia, eficacia y efectividad y relevancia en las instituciones de educación superior. (en línea), consultado 11 octubre 2015
22. Kaps M, Lamberson WR. 2010. Biostatistics for animal science. Wallingford: CABI Publishing.
23. Knipe D y Howley P. Fields Virology. 5ta Edición. Lippincott Williams y Wilkins, Wolters Klubwer Business. 2007.
24. Instituto Nacional de Estadística e Informática, INEI (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. Lima.
25. Lobato Z, Birgel J. 2000. Verrugas atrapalham a produção. Produtor Parmalat.
26. Melo C, Leite R. 2003. Papilomatose Bovina. Ciencias . Veterinaria. trop., Recife-PE.
27. Megías M, Molist P, Pombal M. 2016- Atlas de Histología Animal y Vegetal, Epitelios de Revestimiento. Departamento De Biología Funcional Y Ciencias De La Salud. Facultad De Biología. Universidad De Vigo.
28. Montaña, P. y Justiniano, M. (2006). Evaluación de la Equivalencia Terapéutica de Cuatro Tratamientos Contra la Papilomatosis Bovina. Santa Cruz, Bolivia.
29. Morillas A. 2012, Analisis de Varianza, disponible en <http://webpersonal.uma.es/~Morillas/Anova.pdf>

30. Murphy FA, Gibss PJ, Horzinek MC, Studdert MJ, 2009. *Veterinary Virology*. 3 ed. Academic.
31. Mc Bride A, Dlugosz A y Baker C.. "Production of infectious bovine papillomavirus from a cloned viral DNA by using an organotypic raft/ xenograft technique". National Institutes of Health.
32. Nasir L. Campo M. 2008. *Papilomavirus Bovino: rol en la etiología de tumores cutáneos de bovinos y equinos*. The Autores. Journal compilation.
33. O'Brien P, Campo MS. 2002. Evasion of host immunity directed by papillomavirus encoded proteins. *Virus Research*.
34. Puri, O. 2009. Efectos clínicos de la vacuna contra la enfermedad de Newcastle en el control de la papilomatosis en hatos bovinos de la Región San Martín. Lima: UNMSM.
35. 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: McGrawHill interoamericana S.A.
36. Radostits O, Gay C, Blood D y K.. Hinchcliff. *Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9na edición. Elsevier-Saunders. Inglaterra. 2005
37. Reza, L. García, F. 2008. *Papilomadermatosis Contagiosa. Sistemas de producción animal II*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Círculo de Estudio.
38. Redvet J. "Verruga de los pezones". 2010. Disponible en: [www.veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)
39. Rojas M. 2010. *Manual de Redacción Científica*. UNMSM, Lima- Perú.
40. Rodríguez R, Cordero L, Gutiérrez E, Castro M, Ojeda M, Navarro T. *Papilomatosis bovina en el trópico mexicano: presentación clínica y control- 2015- México*.
41. Romanos M, Santos M, Miranda M, 2002. *Introducao a virologia humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
42. Salib F. y Faghali H. *Clinical, epidemiological and therapeutic studies on Bovine Papillomatosis in Northern Oases, Egypt in 2008*.
43. Santin A, Brito L. 2004. *Estudio de la papilomatosis cutánea en bovinos lecheros: Comparación de diferentes tratamientos*. *Ciencia Animal Brasileira*.
44. Saveira M, "Papilomavirus research: from natural history to vaccines and beyond". Caister Academic Press. Norfolk, Inglaterra. 2006.

45. Silva M, Pontes N, Da Silva K, Guerrab M, Freitas A. 2011. Detection of bovine papillomavirus type 2 DNA in commercial frozen semen of bulls (*Bos taurus*). Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil.
46. Silva M, Batista M, Pontesa N, Santosa E, Coutinhob L, Castro R, Balbinoa V, Freitas A. 2013. Comparison of two PCR strategies for the detection of bovine papillomavirus. Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil.
47. Tizard I. 2002 *Inmunología Veterinaria*. Sexta edición. McGraw-Hill Interamericana. México DF.
48. Valencia C.E, Payan J, Appel V. A, Salazar H. 2013. Valoración de la Eficacia del cobre contra la Papilomatosis Bovina en el departamento del Cauca.
49. Vásquez, R. Escudero, C. Doménech, A. Gómez, D. Benítez, L. 2012. Papilomatosis bovina: Epidemiología y diversidad de papilomavirus bovinos (BPV). *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2012. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.
50. Vargas M, *Virología Médica*. Primera Edición. Universidad Nacional de Colombia. 2002.
51. Zaldivar, Q. N.; Pereira, H. A.; Pueblas D. H. y Ferrales Z. J. E. 2014. Ensayo terapéutico de la Papilomatosis Bovina.
52. Zelaya A., Acebedo J., Chavarria D. (2007). Tratamientos alternativos potenciales en el control de la papilomatosis bovina en el municipio de Matagalpa durante el II semestre del 2007. Matagalpa- Nicaragua.

## ANEXOS:

**Anexo 1:** Ficha de Identificación de los animales estudiados en el Fundo Virgen de Chapi:

Nº	raza	sexo	edad (meses)	Cond. Corp.	zona de afección por papilomas	tratamiento	observaciones clínicas
1	Brown Zuis	hembra	8	3	cuello, orejas	Autovacunaas (T1)	P. garrapatas
2	Criollo	hembra	24	4	cuello, cabeza	Autovacunaas (T1)	
3	Criollo	hembra	14	4	cabeza	Autovacunaas (T1)	diarreas
4	Holstein	hembra	6	3	cuello, orejas	Autovacunaas (T1)	.P. garrapatas
5	Criollo	macho	6	3	cuello, cabeza	Autovacunaas (T1)	P. garrapatas
6	Brown Zuis	hembra	8	4	cuello	Hemoterapia (T2)	
7	Criollo	macho	7	3	cuello, torax	Hemoterapia (T2)	P. garrapatas
8	Holstein	hembra	18	3	cabeza	Hemoterapia (T2)	
9	Criollo	hembra	5	3	cuello, cabeza	Hemoterapia (T2)	P. garrapatas
10	Criollo	macho	24	4	cuello	Hemoterapia (T2)	P. garrapatas
11	Criollo	hembra	14	3	cabeza	Clorobutanol (T3)	P. garrapatas
12	Holstein	hembra	12	3	cervical, orejas	Clorobutanol (T3)	
13	Criollo	macho	5	3	cervical, cabeza	Clorobutanol (T3)	P. garrapatas
14	Criollo	macho	6	2	cervical	Clorobutanol (T3)	
15	Holstein	hembra	20	3	oreja, cuello, ubre	Clorobutanol (T3)	P. garrapatas
16	Criollo	hembra	24	3	cervical	Testigo (T4)	P. garrapatas
17	Brown Zuis	macho	11	3	cabeza, oreja	Testigo (T4)	
18	Gyrholando	macho	3	3	cervical, orejas	Testigo (T4)	
19	Criollo	hembra	10	3	cabeza	Testigo (T4)	P. garrapatas
20	Criollo	hembra	8	3	cervical, cabeza	Testigo (T4)	

Tabla N° 8.

*Fuente: Elaboración Propia*

La selección se realizó de manera aleatoria en animales infectados con Papilomatosis Bovina, la identificación consistió en considerar un número que sirvió como un código (debido a que no poseían identificación).



## Anexo 2: Encuesta realizada al Fundo Virgen de Chapi.

**Encuestas Sobre Papilomatosis Bovina**

Nombre de la hacienda: Virgen de Chapi  
 Lugar (ubicación): Km 12 (carretera interoceánica Puerto M - Cusco)  
 Nombre del propietario: José Pérez Aragón  
 Número de animales (aproximado): 194  
 Raza: Holstein: 45 Jersey: 0 Brown Swiss: 10 Brahman: 0 Gyr: 10 Mixtas (F1): 30  
 Otras: 90  
 Tipo de producción: Lechera, Carnica y doble propósito  
 Tipo de Manejo: Pastoreo y Semiestabulado

1.- En su propiedad o alguna cercana, conocida se han presentado casos de papilomatosis bovina (verrugas)  
 SI  NO  NO SABE  (Pase a pregunta 4)

2.- Tiene actualmente animales que presentan la enfermedad  
 SI  NO  NO SABE

3.- Cada cuánto tiempo se presenta la enfermedad: Casi permanente, más en épocas de lluvia

5.- Cuántos animales infectados (aproximadamente) hay en su propiedad:  
de 33 a 45 animales.

4.- En caso de que se haya presentado la enfermedad, a qué grupo de animales ha afectado más:  
 Terneros (Hasta 3 meses)  Vacas de 1er servicio  Vacas 1er parto:  
 \_\_\_\_\_ Vacas secas: \_\_\_\_\_ Animales con alguna otra patología:  parásitos (garrapatas) Toro \_\_\_\_\_

4.- Utiliza algún tipo de tratamiento o control para la papilomatosis:  
 Autovacuna \_\_\_\_\_ Hemoterapia:  Autorecuperación:   
 Antibióticos:  Otras: desparasitación externa

5.- Estaría interesado y dispuesto a que se pueda muestrear y tratar a sus animales para realizar el estudio sobre la papilomatosis bovina: si  no

Figura N° 9.

Fuente: Elaboración Propia

**Anexo 3:** Formato del conteo general de papilomas en cada tratamiento

Evaluación Tratamiento I (Autovacuna s)										
N°	identificación	Día 0		Día 15		Día 30		Día 60		Observaciones
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1	1	20	0	10	50	6	30	2	10	
2	2	15	0	8	53	4	27	0	0	
3	3	25	0	15	60	8	32	1	4	
4	4	8	0	4	50	3	38	0	0	
5	5	10	0	8	80	5	50	0	0	
<b>Total</b>		<b>78</b>	<b>0%</b>	<b>45</b>	<b>41%</b>	<b>27</b>	<b>65%</b>	<b>3</b>	<b>96%</b>	

Evaluación Tratamiento II (Hemovacuna)										
N°	identificación	Día 0		Día 15		Día 30		Día 60		observaciones
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1		14	0	10	71	8	57	3	21	
2		25	0	18	72	10	40	5	20	
3		16	0	10	63	7	44	4	25	
4		14	0	13	93	9	64	3	21	
5		5	0	5	100	3	60	1	20	
<b>Total</b>		<b>74</b>	<b>0%</b>	<b>56</b>	<b>20%</b>	<b>37</b>	<b>47%</b>	<b>16</b>	<b>80%</b>	

Evaluación Tratamiento III (clorobutanol)										
N°	identificación	Día 0		Día 15		Día 30		Día 60		observaciones
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1		10	0	7	70	3	30	0	0	
2		25	0	15	60	10	40	4	16	
3		14	0	7	50	3	21	1	7	
4		16	0	10	63	7	44	2	13	
5		25	0	18	72	13	52	1	4	
<b>Total</b>		<b>90</b>	<b>0%</b>	<b>57</b>	<b>37%</b>	<b>36</b>	<b>63%</b>	<b>8</b>	<b>90%</b>	

Evaluación Tratamiento IV (Testigo)										
N°	identificación	Día 0		Día 15		Día 30		Día 60		observaciones
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1		14	0	13	93	13	93	14	100	Incremento N° papilomas
2		12	0	12	100	11	92	14	117	Incremento N° papilomas
3		25	0	25	100	29	116	32	128	Incremento N° papilomas
4		30	0	35	117	34	113	35	123	
5		10	0	15	150	14	140	25	200	Incremento N° papilomas
<b>Total</b>		<b>91</b>	<b>0%</b>	<b>100</b>	<b>0%</b>	<b>101</b>	<b>0%</b>	<b>117</b>	<b>0%</b>	

Tabla N° 9

Fuente: Elaboración Propia

**Anexo 4:** evaluación estadística de los conteos iniciales de papilomas en el día 0

	T1	T2	T3	T4	
R1	20	14	10	14	
R2	15	25	25	12	
R3	25	16	14	25	
R4	8	14	16	30	
R5	10	5	25	10	
TOTAL	78	74	90	<b>91</b>	333
PROMEDIO	15.6	14.8	18	<b>18.2</b>	16.65

$$TC=5544.45$$

## Análisis de varianza

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado M. del error	FC	FT 5%	FT 1%	
tratamiento	3	43.75	14.58333333	3.81771429	3.24	5.29	*
Error	16	890.8	55.675				
Total	19	934.55					
Coeficiente de V =	29.9057027						

Tabla N°10

*Fuente: Elaboración Propia*

F calculado es mayor que F tabulado al 5%, se concluye que al 95% de certeza podemos hallar las diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variabilidad nos muestra un valor de 29.9 % hecho que nos demuestra que estamos dentro de la distribución normal.

## Comparación:

Tukey 5%=	13.5145047
-----------	------------

		T4	T3	T1	T2
		18.2	18	15.6	14.8
T4	18.2	0	0.2	2.6	3.4
T3	18		0	2.4	3.2
T1	15.6			0	0.8
T2	14.8				0

		5% tukey
T4	18.2	a
T3	18	ab
T1	15.6	abc
T2	14.8	abcd

Con un 95% de certeza se afirma que los tratamientos son homogéneos

**Anexo 5.** Evaluación estadística de la efectividad de los tratamientos en el día 15

	T1	T2	T3	T4	
R1	50	29	30	0	
R2	47	28	40	0	
R3	40	37	50	0	
R4	50	7	37	0	
R5	20	0	28	0	tc=12152
TOTAL	207	101	185	0	493
PROMEDIO	41.4	20.2	37	0	24.65

## Análisis de varianza.

F. V	Gl	Sc	CME	FC	FT 5%	FT 1%	
tratamiento	3	5302.55	1767.517	14.5027	3.24	5.29	* **
error	16	1950	121.875				
total	19	7252.55					
CV =	20.22564						

Tabla N° 11.

*Fuente: Elaboración Propia*

F calculado es mayor que F tabulado, tanto al 5 % y 1%, entonces se concluye que con un 99% de certeza podemos hallar diferencias altamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variabilidad muestra un valor de 20%, lo que demuestra que está dentro de la distribución normal y que podemos continuar con el análisis.

## Comparación:

tukey 5% =	19.99527	tukey 1 % =	25.62357		
		T1	T3	T2	T4
		41.4	37	20.2	0
T1	41.4	0	<b>4.4</b>	<b>21.2</b>	<b>41.4</b>
T3	37		<b>0</b>	<b>16.8</b>	<b>37</b>
T2	20.2			<b>0</b>	<b>20.2</b>
T4	0				<b>0</b>

		tukey 5%	tukey 1%
autovacunas (t1)	41.4	a	a
clorobutanol (t3)	37	ab	ab
hemovacunas (t2)	20.2	bc	bc
testigo (t4)	0	d	cd

Con un 99% de certeza se afirma que las autovacunas y clorobutanol son tratamientos con mayor efectividad en el día 15 de evaluación, estadísticamente son iguales.

**Anexo 6:** Evaluación estadística de la efectividad de los tratamientos en el día 30

	T1	T2	T3	T4		
R1	70	43	70	0		
R2	73	60	60	0		
R3	68	56	79	0		
R4	62	36	56	0		
R5	50	40	48	0		
TOTAL	323	235	313	0	871	
PROMEDIO	64.6	47	62.6	0	43.55	Tc=37932.05

**Análisis de varianza**

F. V	Gl	Sc	CME	FC	FT 5%	FT 1%	
tratamiento	3	13572.55	4524.18333	53.445757	3.24	5.29	* **
Error	16	1354.4	84.65				
Total	19	14926.95					
CV =	21.45						

Tabla N° 12.

*Fuente: Elaboración Propia*

Se concluye que con un 99 % de de certeza podemos hallar las diferencias altamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variabilidad nos indica que los datos están dentro de la distribución normal.

**Comparación:**

tukey 5% = 16.6641    tukey 1% = 21.354

		T1	T3	T2	T4
		64.6	62.6	47	0
T1	64.6	0	2	17.6	64.6
T3	62.6		0	15	62.6
T2	47			0	47
T4	0				0

		tukey 5%	tukey 1%
autovacunas	41.4	a	a
clorobutanol	37	ab	ab
hemovacuna	20.2	bc	bc
testigo (t4)	0	d	d

Con un 99% de certeza se afirma que las autovacunas y cloro butanol son tratamientos con mayor efectividad en el día 30 de evaluación, estadísticamente son iguales.

**Anexo 6:** evaluación estadística de la efectividad de los tratamientos en el día 60

	T1	T2	T3	T4		
R1	90	79	100	0		
R2	100	80	84	0		
R3	96	75	93	0		
R4	100	79	87	0		
R5	100	80	96	0		
TOTAL	486	393	460	0	1339	
PROMEDIO	97.2	78.6	92	0	66.95	89646.05

**Análisis de Varianza**

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	CME	FC	FT 5%	FT 1%	
tratamiento	3	30802.95	116.677841	7.0713843	3.24	5.29	* **
Error	16	264	16.5				
Total	19	31066.95					
CV =	24.6452577						

Tabla N° 13.

*Fuente: Elaboración Propia*

F calculado es mayor que F tabulado, tanto al 5 % y 1%, entonces se concluye que con un 99% de certeza podemos hallar diferencias altamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variabilidad muestra un valor de 20%, lo que demuestra que está dentro de la distribución normal y que podemos continuar con el análisis.

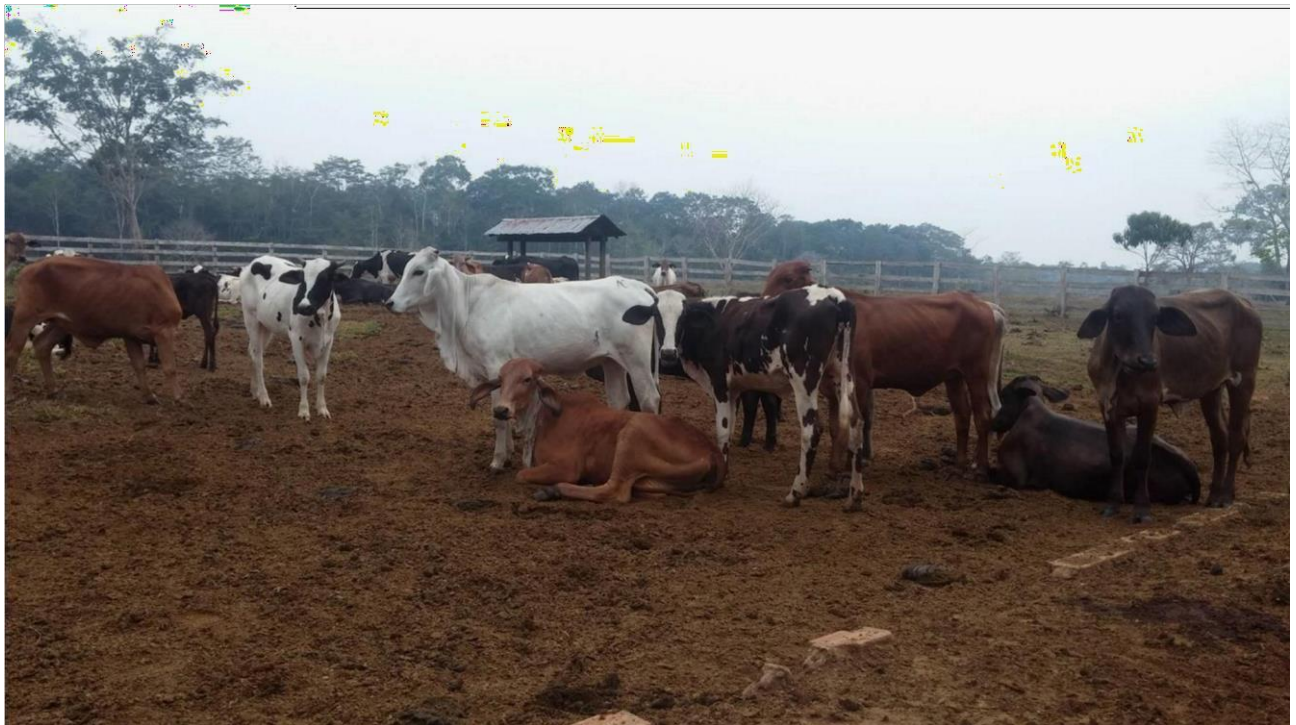
**Comparación**

tukey 5% =	7.35719036	tukey 1 % =	9.4281032		
		T1	T3	T2	T4
		97.2	92	78.6	0
T1	97.2	0	5.2	18.6	97.2
T3	92		0	13.4	92
T2	78.6			0	78.6
T4	0				0

		tukey 5%	tukey 1%
autovacunas	41.4	a	a
clorobutanol	37	ab	ab
hemovacuna	20.2	c	c
testigo (t4)	0	d	d

A un 99% de certeza se afirma que los tratamientos con autovacunas y clorobutanol son estadísticamente iguales y tienen una mayor efectividad que los tratamientos con hemovacunas.

**Anexo 7.-** Fundo Virgen e Chapi, Distrito Tambopata- Madre de Dios.



*Fig. 10: Bovinos de diferentes razas del Fundo Virgen de Chapi.*





*Fig. 11: Corral de terneros en el local de ordeño.*

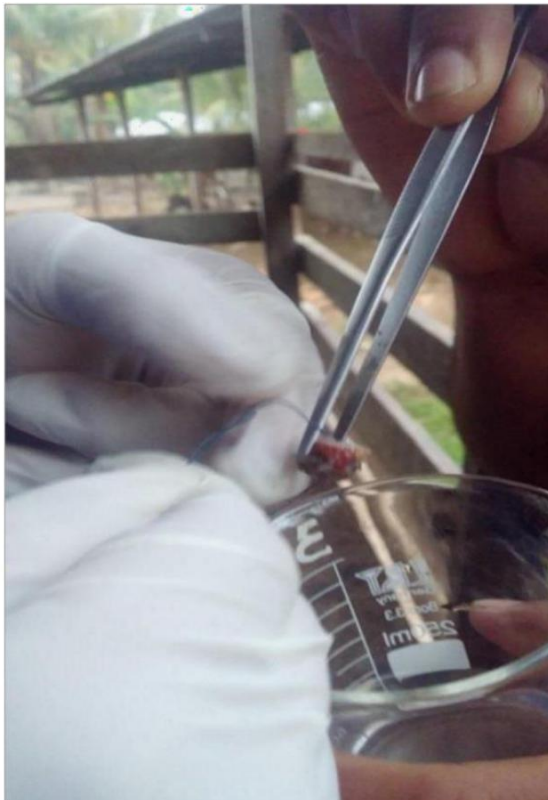


*Fig. 12: Local de ordeño*

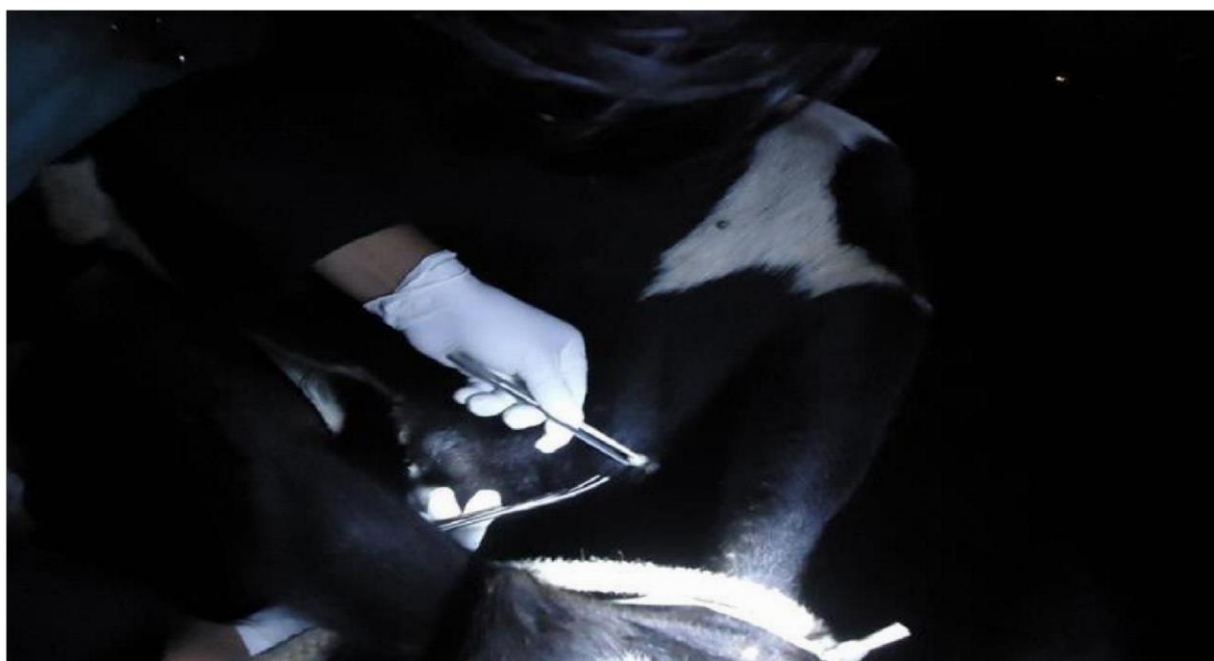


**Anexo 8.-** Corte de tejido con papilomas para el análisis histopatología

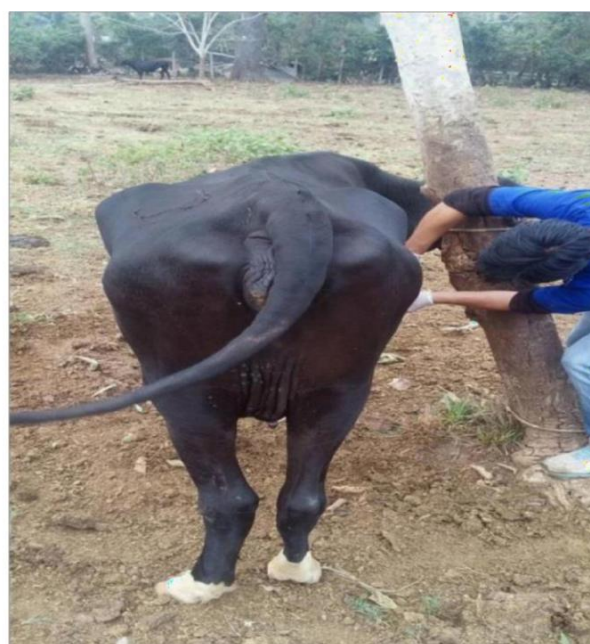
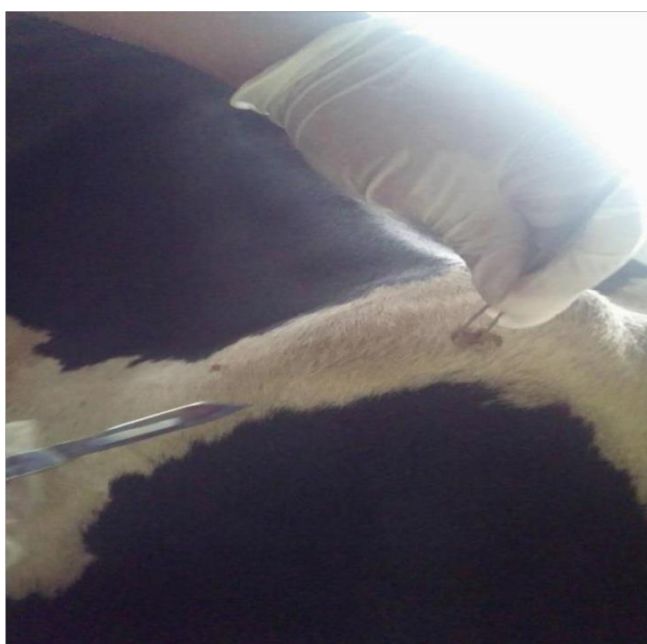
*Fig.13 Corte de muestras de tejidos con papilomas para el envío al laboratorio (UNA-Puno)*



*Fig14 y 15; Identificación y conservación en formalina 12 % para el envío de las muestras*

**Anexo 9.-** Corte de papilomas para la elaboración de la autovacuna

*Fig. 16: corte de papilomas para él envío al laboratorio*



*Fig. 17 y 18; corte de papilomas de diferentes regiones del cuerpo del animal*

**Anexo 10:** Preparación de las autovacunas:

*Fig.19: Papilomas para el machacado.*



*Fig. 20: Filtrado en suero fisiológico*



*Fig. 21, 22: Centrifugación*



*Fig 23: Envase para las autovacunas*



**Anexo 11:** Aplicación de autovacunas

*Fig 24: Ternero con papilomatosis*



*Fig.25: Aplicación de autovacunas*

**Anexo 12:** Tratamiento con Autohemoterapia.

*Fig. 26 Extracción sanguínea*



*Fig. 27 y 28: Extracción sanguínea y aplicación intramuscular*



**Anexo 13:** Aplicación de Clorobutanol 25%.

*Fig. 29: Aplicación del Clorobutanol (Verrugal, laboratorios Galmedic)*



*Fig 30: Aplicación de Clorobutanol 25%.*



**Anexo 14.-** Aplicación de suero fisiológico (tratamiento testigo)

*Fig. 31 y 32 Aplicación de suero fisiológico vía subcutánea*

**Anexo 15.** Efectividad de los tratamientos (conteo de papilomas)

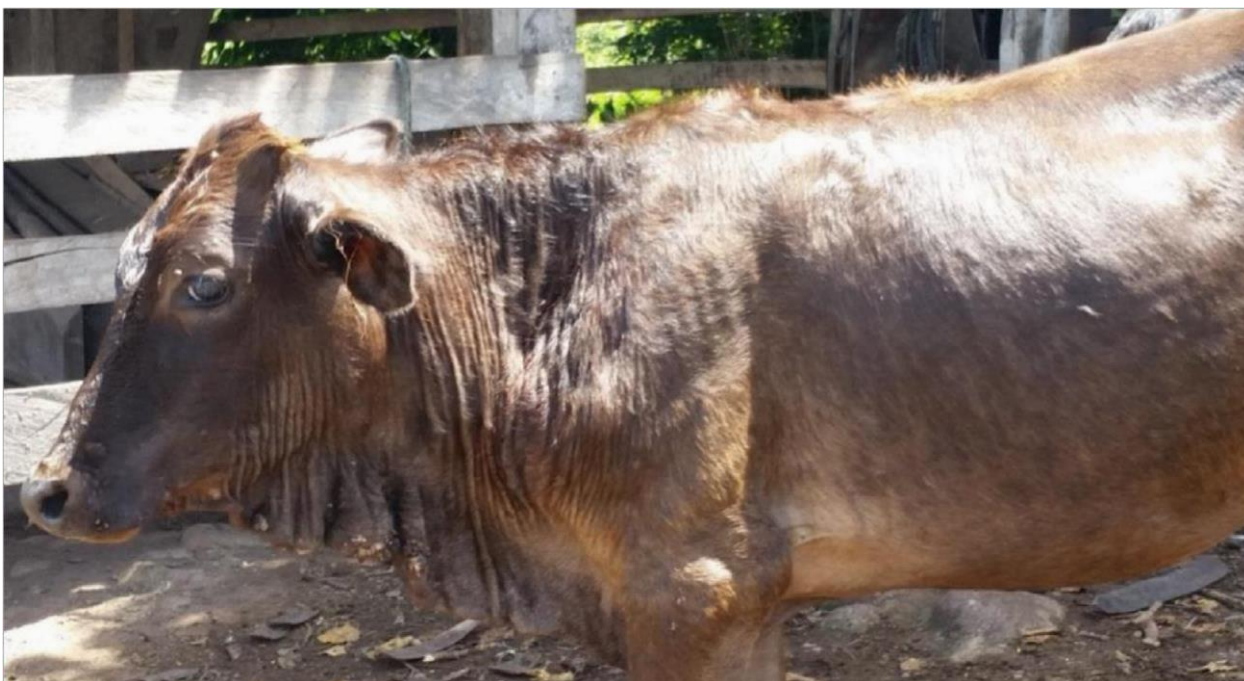
*Fig.32 y 33 ; Recopilación de datos (conteo de papilomas), elaboración de un registro.*



**Anexo 16: Efectividad del tratamiento I (Autovacuna)**



*Fig. 34: Presencia de papilomas en el día 0*



*Fig. 35: Efectividad de la Autovacuna, día 60.*



**Anexo 17: Efectividad del tratamiento II (Autohemoterapia)**



*Fig. 36: Papilomas en el día 0*



*Fig. 37: Efectividad de la Autohemoterapia en el día 60*

**Anexo 18:** Efectividad del tratamiento II (Clorobutanol 25%)



*Fig. 38: Presencia de papilomas en el día 0*



*Fig. 39: Efectividad del tratamiento en el día 60*



**Anexo 19:** Efectividad del tratamiento IV (testigo, suero fisiológico)



*Fig. 40: Presencia de papilomas en el día 0*

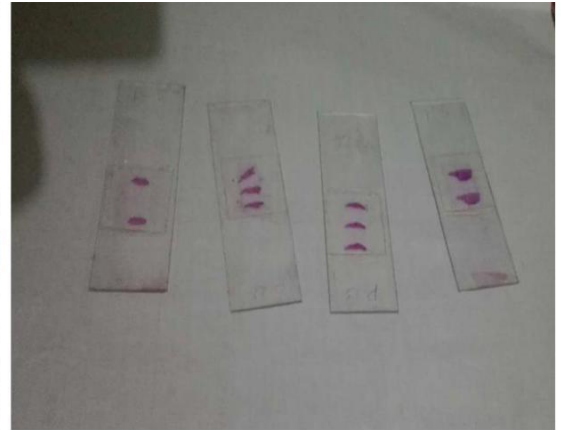


*Fig.41: Efectividad del tratamiento en el día 60*

**Anexo 20.-** Muestras histopatológicas.



*Fig. 42: Processo de tinción con eosina.*



*Fig. 43: Muestras Histopatológicas*



*Fig. 44: Observación de las placas histopatológicas en microscopia óptica*