

VALORACIÓN DE LA EFICACIA DEL COBRE CONTRA LA PAPILOMATOSIS BOVINA EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA

EVALUATION OF THE EFFICACY OF COPPER AGAINST BOVINE PAPILOMATOSIS IN THE DEPARTMENT OF CAUCA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO COBRE CONTRA PÁPILOMATOSE EM BOVINOS NO DEPARTAMENTO DE CAUCA

CARLOS EDUARDO VALENCIA H. ¹, JAIME PAYAN M. ², VENUS ALMA APPEL U. ³, HAROLD SALAZAR A. ⁴

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la efectividad del cobre como terapéutica alternativa, frente a dos tratamientos tradicionales para el control de la Papilomatosis bovina. Se trabajó con 40 hembras bovinas mestizas, de aptitud doble propósito, portadoras de Papilomatosis cutánea, con edades entre 3 – 72 meses criadas extensivamente, localizadas en la zona centro, Norte y Oriente del departamento del Cauca. Se seleccionaron animales que no habían recibido tratamiento previo contra papilomatosis cutánea. Los animales se distribuyeron al azar, independiente del rango de edad en 4 grupos de 10 bovinos: Grupo I (Grupo control): Aplicación de agua destilada; Grupo II: arete de alambre de cobre colocado en el pabellón auricular; Grupo III: Aplicación de histovacuna cada 15 días por dos aplicaciones; Grupo IV: Aplicación de diaceturato de 4.4 Diazoaminodibenza-

Recibido para evaluación:18/06/2012. **Aprobado para publicación:** 01/04/2013.

- 1 Esp. Administración de Empresas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Antonio Nariño. Sede Popayán, Colombia. Dirección de correspondencia: carlos.valencia@uan.edu.co
- 2 Ms. Patología Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Antonio Nariño. Sede Popayán, Colombia.
- 3 Esp. Laboratorio Clínico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Antonio Nariño. Sede Popayán, Colombia.
- 4 Esp. Gerencia de Proyectos con Énfasis en Mercadeo Agropecuario. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Antonio Nariño. Sede Popayán, Colombia.

Correspondencia: carlos.valencia@uan.edu.co

midina al 7%, 3,5 mg/kg de peso vía intramuscular cada 8 días en cuatro aplicaciones. Se evaluó el número de papilomas cutáneos cada 15 días después de iniciado el tratamiento hasta completar 60 días. Los resultados obtenidos demostraron que el arete de cobre fue el tratamiento más consistente en generar una reducción del número de papilomas; sin embargo, no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre la eficacia de los cuatro tratamientos.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the efficacy of copper as an alternative treatment for bovine papillomatosis, in comparison to two standard treatments. Forty female cross-bred, dual-purpose bovines with cutaneous papillomatosis, between the ages of 3 to 72 months, raised in pasture in the center, North and East of the department of Cauca were studied. Only animals that had not previously received other treatments for papillomatosis were included in this study. The animals were randomly distributed, independently of age, into 4 treatment groups of 10 animals each: Group I (control group) received a single injection of distilled water; Group II had a copper wire earring placed on each ear; Group III received treatment with an autogenous papillomavirus vaccine twice 15 days apart; Group IV received 4 intramuscular injections, every 8 days, of 7% dimina-zene diacetate at a dose of 3,5 mg per kg of body weight. The animals were evaluated at 15 day intervals during a 60 day period for the number of cutaneous papillomas. The results showed that the treatment with the copper earring was the most consistent in generating a reduction in the number of papillomas, however, there was no significant statistical difference in efficacy of treatment between the four groups.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do cobre como uma alternativa terapêutica, em comparação com dois tratamentos tradicionais para controle biológico de papilomatose. Foram utilizadas 40 fêmeas bovinas mestiças, de aptidão dupla, acometidas por papilomatose cutânea, com idades entre 3 e 72 meses, criadas extensivamente, localizadas nas regiões centro, norte e leste do Departamento de Cauca. Foram selecionados os animais que não tinham recebido tratamento prévio contra papilomatose cutânea. Os animais foram distribuídos aleatoriamente, independente da faixa etária em 4 grupos de 10 animais: Grupo I (grupo controle): Aplicação de água destilada, Grupo II: brinco de fio de cobre colocado na orelha, Grupo III: Aplicação de histovacina a cada 15 dias, para duas aplicações, Grupo IV: Aplicação de diacetato de 4,4 diazoaminodibenzamidina a 7%, 3,5 mg/kg de peso por via intramuscular a cada 8 dias em quatro aplicações. Foram avaliados o número de marcas na pele a cada 15 dias após o início do tratamento até 60 dias. Os resultados mostraram que o anel de cobre foi o tratamento mais consistente para gerar uma redução no número de papilomas, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre a eficácia dos quatro tratamentos.

PALABRAS CLAVES:

Arete de cobre, Tratamiento, Papilomavirus cutáneo

KEY WORDS:

Copper earring, Treatment, Cutaneous papillomavirus

PALAVRAS-CHAVE:

Brinco de cobre, Tratamento, Papilomavirus cutânea

INTRODUCCIÓN

La Papilomatosis bovina es una enfermedad causada por un virus perteneciente a la familia Papilomaviridae, anteriormente incluida entre los Poliomavirus, dentro de la familia Papoviridae. El agente causal es un virus ADN de doble cadena y es causante de formación de neoplasias cutáneas (verrugas) tanto de la piel como de las membranas mucosas de numerosas especies de animales domésticos. El virus no posee envoltura, tiene doble cadena circular y simetría helicoidal y su réplica se hace en el núcleo siendo las células blanco las epidérmicas en las cuales su propiedad principal es la de producir cuerpos de inclusión y coilocitos los cuales se identifican por ser células vacuoladas y que sirven de apoyo en el diagnóstico de la enfermedad [1].

El virus es resistente permaneciendo viable por largo tiempo, favoreciendo la trasmisión de la enfermedad la cual se da por contacto directo y fómites, siendo específicas de las respectivas especies tales como: caninos, equinos y bovinos especialmente los jóvenes de diferentes razas y cruces siendo esta, una razón importante de descartes de novillas de leche [2].

La Papilomatosis bovina presenta dificultades en el control debido a los diferentes tipos de virus que afectan a los bovinos, los cuales se han tipificado en seis variantes a saber: Tipo 1 y 2 que afecta cabeza, cuello, pene y mucosa vaginal; Tipo 3 variante que afecta la piel; Tipo 4 que afecta el tracto alimenticio y se ha asociado al consumo de he leche; Tipo 5 en forma de grano de arroz en los pezones y el Tipo 6 formas aplanadas en los pezones. Por otra parte los animales afectados presentan dificultad en la comercialización debido al aspecto desagradable y el deterioro de las pieles para ser utilizadas en la industria de marroquinería [1].

Los papilomas o verrugas crecen inicialmente lentamente en forma de nódulos; luego lo hacen rápidamente alcanzando diferentes tamaños, y se van cornificando, adquiriendo diferentes formas como de coliflor, granos de arroz o pedunculados. Los nódulos generalmente se ulceran siendo invadidos por infecciones secundarias afectando la producción de leche y carne.

En el municipio de Popayán departamento del Cauca, la enfermedad es prevalente, así como en otros municipios donde ha sido reportada por asistentes

Veterinarios, incluyendo, Santander de Quilichao, El Bordo, Timbio entre otros. La presencia de esta enfermedad en los hatos ganaderos causa importantes pérdidas económicas debido a que animales con lesiones extensas presentan pérdida del estado general debido a la frecuente invasión bacteriana secundaria de papilomas traumatizados; aquellos que se asientan en los pezones dificultan el ordeño y en algunos casos causan pérdida parcial o total de la glándula mamaria. Además, animales afectados presentan dificultad en la comercialización debido al aspecto desagradable y el deterioro de las pieles para ser utilizadas en la industria de marroquinería.

La Papilomatosis bovina presenta dificultades en el control. Son múltiples los tratamientos que se han sugerido, pero la efectividad reportada de estos ha sido variable, aun mas, la efectividad de algunos tratamientos alternativos propuestos no ha sido valorada experimentalmente

Entre los tratamientos reconocidos para el control de la papilomatosis bovina se encuentra, la intervención quirúrgica, pero esta es dispendiosa y poco practica en casos generalizados. Las vacunas autógenas preparadas con tejidos de verrugas del animal infectado son una alternativa en control de la enfermedad [3, 4, 5] aunque no siempre son efectivas. Otros tratamientos utilizados incluyen el 4.4 Diaceturato de Diazoaminodibenzamidina [4, 5], células inactivadas de *Propionobacterium* [5], la auto hemoterapia, inyección de preparados que contienen bismuto y antimonio, tratamientos homeopáticos con Thuja [6], ácido salicílico y látex de higuera [7] y con el Etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre [8]. Finalmente, la papilomatosis también puede ser autolimitante con regresión espontánea de los papilomas mediada por la inmunidad celular y humoral.

El uso del cobre en la forma de Etilenodinitrilo tetracetato de calcio y cobre a razón de 200 mg en un grupo de animales con papilomatosis de varios tipos resulto más efectivo como tratamiento que el cobre orgánico en dosis de 287,4 mg, constituido como Lactobionato de cobre vía parenteral [8].

En el estudio "Evaluación y diseño de histovacunas empleadas para tratamiento de Papilomatosis Bovina" [3] se evaluó dos histovacunas, una de carácter comercial, "Probiol" constituida en un 70% por papilomas y un 30% de excipientes más adyuvante y otra "Histovac" preparada en el Laboratorio de Biología Ce-

lular y Molecular de la Universidad del Cauca a partir de los papilomas previamente desqueratinizados. Las vacunas se indujeron utilizando protocolos de inmunización con adyuvante completo e incompleto de Freuds para la inmunización primaria y secundaria. El análisis de la respuesta inmune se realizó mediante la cuantificación de inmunoglobulina G producida en conejos blancos Nueva Zelanda utilizando el método de Bradford. Además, las dos histovacunas se compararon mediante SDS-PAGE (12%). La cuantificación de inmunoglobulina, los perfiles electroforéticos y el análisis estadístico permitieron concluir que la histovacuina "Histovac" preparada en el laboratorio presenta mayor efectividad en la producción de anticuerpos y ofrece ventajas mayores de manejo debido a que su presentación como histovacuina liofilizada estéril permite su uso aún en lugares donde no se cuenta con refrigeración para mantener esta preparación.

En el 2003, se evaluó la eficiencia de una autovacuina contra el papilomavirus bovino, frente a tres tratamientos diferentes: Vacuna comercial; el 4.4 Diaceturato de Diazoaminodibenzamidina y la Podofilina [4]. El estudio se desarrolló en una explotación ganadera del municipio de Manizales (Caldas) para lo cual se utilizaron 20 bovinos hembras de la raza Normando con edades entre 12 y 20 meses, los cuales se dividieron en 5 grupos: Grupo 1: Autovacuina; Grupo 2: vacuna comercial; Grupo 3: 4.4 diaceturato de diazoaminodibenzamidina; Grupo 4: Podofilina y Grupo 5: Control, el tiempo de evaluación fue de 60 días. Se evaluó la eficacia de los tratamientos teniendo en cuenta la desaparición de los papilomas en los animales del estudio, encontrando curación de: 100% en el grupo 1, seguido de los grupos 2, 3 y 4 con 82,5%, 68,2% y 53,3% respectivamente.

En el 2004, se realizó un estudio comparativo de cuatro tratamientos para la Papilomatosis Bovina en tres veredas del municipio de Cajibío departamento del Cauca con miras a identificar el grado de efectividad de las histovacunas autógenas y heterólogas frente al Diaceturato de 4'4 al 7% y el de Células inactivadas de *Propionibacterium granulosum* 1,9 x 10 a la 12 exosaminas proveniente de *Escherichia coli*, 5 micromol [5]. En cada una de las veredas del estudio seleccionaron los Bovinos con Papilomatosis de ambos sexos, con diferentes edades comprendidas entre un mes y cuatro años de vida, con diferentes exposiciones en el tiempo al virus del Papiloma. Al final del período del estudio en sesenta días (60) se pudo identificar que los animales tratados con las células

inactivadas de *Propionibacterium granulosum* 1,9 x 10 a la 12 exosaminas proveniente de *Escherichia coli* 5 micromol lograron una eliminación total de los Papilomas, seguido del tratamiento con el Diaceturato de 4,4'- Diazoaminodibenzamidina al 7% en donde hubo una eliminación en promedio del 97,6 %.

Existen tratamientos empíricos que realizan los ganaderos con productos o elementos no tradicionales los cuales utilizan como medicina alternativa y que no se han valorado experimentalmente dificultando el conocimiento sobre su verdadera o no efectividad, tal es el caso de los aretes de cobre insertados en las orejas. Conociendo la importancia del cobre para el adecuado funcionamiento del sistema inmune en este estudio se evaluó y comparó la efectividad del arete de cobre contra la papilomatosis bovina frente a la efectividad de la histovacuina, el diaceturato y un tratamiento placebo.

MÉTODO

El trabajo se desarrolló en tres zonas del departamento del Cauca: Zona Norte con el municipio de Santander de Quilichao, ubicado en el Valle Geográfico del río Cauca; Zona Centro con los municipios de Popayán y Cajibío ubicados en la Meseta de Popayán y Zona Oriente con el Municipio de Sotará ubicado en la zona sur de la cordillera central.

La investigación propuesta correspondió a un estudio epidemiológico de tipo experimental en donde se tuvieron en cuenta 40 hembras bovinas mestizas, de aptitud doble propósito, portadoras de papilomatosis cutánea, con edades entre 3 – 72 meses criadas extensivamente. Se seleccionaron solo animales que no habían recibido vacuna o algún tratamiento contra Papilomatosis cutánea previamente. Los animales se distribuyeron al azar, independiente del rango de edad en 4 grupos de 10 bovinos con los tipos de Papilomas y el tratamiento utilizado: Grupo I (Grupo control) Tratamiento 1: Aplicación de agua destilada 10 ml vía subcutánea una sola dosis; Grupo II Tratamiento 2: arete de alambre de cobre colocado en el pabellón auricular. Grupo III Tratamiento 3: Aplicación de histovacuina contra la Papilomatosis bovina preparada en el Laboratorio de la UAN. Se aplicaron 5 mL cada 15 días en dos aplicaciones vía subcutánea. Grupo IV Tratamiento 4: Aplicación de diaceturato de 4.4 Diazoaminodibenzamidina al 7%, 3,5 mg/kg. de peso vía intramuscular cada 8 días en cuatro aplicaciones vía intramuscular. La evaluación del número de papilomas

presente se hizo cada 15 días después de iniciado el tratamiento hasta completar 60 días.

Los resultados del trabajo se procesaron estadísticamente, con el paquete estadístico MiniTab. Se realizó un análisis de ANOVA unidireccional con un valor de significancia $p = 0,05$, para comparar la eficacia de los tratamientos estudiados.

RESULTADOS

Los tipos de papilomas identificados en cada una de las fincas del estudio estuvieron clasificados como en coliflor, granos de arroz y pedunculados. Se identificaron un total de 3.258 Papilomas en 40 bovinos de los cuales 2.480 (76%) correspondieron a forma de coliflor, 616 (19%) a granos de arroz y solo 161 (5%) se identificaron como pedunculados. Al respecto la literatura menciona la existencia de seis Papilomavirus Bovinos debidamente identificados: PVB Tipo I, II, III, IV, V y VI, siendo los papilomas pedunculados (PVB Tipo II) y los papilomas planos en coliflor (PVB Tipo III) los más comunes, habiendo referencias recientes que afirman que ya existirían 10 genotipos. En este sentido la investigación concuerda con una alta presencia de papilomas planos en coliflor en las 10 fincas seleccionadas para el estudio, mas no en la presencia de pedunculados teniendo en cuenta que estos se presentaron en baja proporción.

Respecto a las edades de los bovinos afectados con la patología, estos se clasificaron en tres rangos de 0 – 24 meses, 25 – 48 meses y mayores de 49 meses. Los papilomas se presentaron en mayor proporción en los animales jóvenes, 80% (32 bovinos) estaban dentro del primer rango de edad, 12,5% (5 bovinos) en el segundo rango de edad y 7,5% (3 bovinos) en el rango de mayores de 49 meses. Esta presentación concuerda con la literatura en donde se manifiesta que la Papilomatosis es una enfermedad viral, infecciosa, que se puede transmitir entre los bovinos y son más susceptibles los terneros [9].

A los 60 días postratamiento hubo reducción en el número de papilomas en 8 de los 10 animales tratados con arete de cobre; para el caso del tratamiento con Diaceturato la reducción se presentó en 6 de los 10 animales tratados, mientras ésta solo se presentó en 5 de los 10 animales tratados con Histovacuna, y en 4 de los 10 semovientes utilizados como placebo. Con respecto a la reducción del número de Papilomas

durante el seguimiento que se les hizo a los bovinos tratados durante los 15, 30, 45, 60 días postratamiento, ésta empezó a manifestarse a los 15 días en los semovientes tratados con Arete de cobre e Histovacuna, para los tratados con Diaceturato la reducción se observó en el mayor número de animales al día 30 post-tratamiento. En lo que respecta a la Histovacuna estos datos difieren con el trabajo realizado por Peña et ál., (2005) [6] quienes evaluaron 2 medicamentos homeopáticos con la histovacuna en bovinos de la empresa pecuaria la Vitrina Amistad Cuba – Uruguay en donde la aplicación de la autovacuna en 50 bovinos genero la eliminación de los papilomas en un periodo más largo (30 días).

Confrontando los 4 tratamientos aplicados a los 40 semovientes del estudio, se puede apreciar, que con el tratamiento aplicación del alambre de cobre en el pabellón auricular hubo una reducción del 45% respecto al número de papilomas detectados al inicio en los 10 bovinos sometidos a éste tratamiento (ver cuadro 1, figura 1); seguido de la aplicación de la Histovacuna en donde la reducción fue del 25% (ver cuadro 1, figura 1) y posteriormente la aplicación del Diaceturato con una reducción del 12% (ver cuadro 1, figura 1). En el grupo placebo se observó un aumento en el numero de papilomas del 30% (ver cuadro 1, figura 1) Respecto al porcentaje de reducción de los Papilomas estos no se aproximan con el trabajo de investigación realizado por Aricapa et ál., (2003) [4] en el que reportaron una reducción del número de Papilomas por autovacuna del 100% y con el Diaceturato del 68.2%. Por otra parte Ruiz, D y Ruiz, J., (2004) [5] reportaron una reducción de papilomas del 97,6% con Diaceturato.

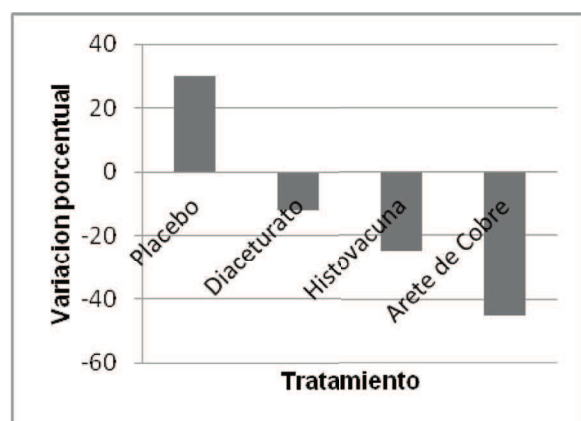
El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa MiniTab. Este reveló que el tratamiento con el menor coeficiente de variación fue el del arete de cobre indicando que fue el más consistente en generar una reducción en el numero de papilomas. Sin embargo, al realizar un ANOVA para comparar la eficiencia de los 4 tratamientos, con una hipótesis nula de igualdad de tratamientos, el nivel de significancia (P) fue de 0,317. Puesto que el nivel de significancia observado (P), fue mayor que 0,05 se decidió no rechazar la hipótesis de igualdad de tratamientos y se concluyo que la eficacia de los distintos tratamientos utilizados contra la papilomatosis es la misma.

Estudios realizados sugieren que la mayoría del cobre en los seres vivos, juega un papel de co-factor para enzimas específicas y de la cadena de transporte de

Cuadro 1. Confrontación de tratamientos

Tratamiento	Numero de Papilomas					Variación
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	
Placebo	605	626	729	886	785	30%
Diaceturato	933	948	930	893	819	-12%
Histovacuna	1293	1071	1053	1001	969	-25%
Arete de cobre	536	497	414	347	295	-45%

Figura 1. Confrontación de tratamientos



electrones. Dos de las principales cuproenzimas son la citocromo C oxidasa y la superóxido dismutasa, las cuales están involucradas en la cadena de transporte de electrones y en el sistema antioxidante de defensa. Otras cuproenzimas incluyen: amino oxidasas, ceruloplasmina, diamino oxidasa, dopamina b-hidroxilasa [10].

Múltiples estudios en ratas y ratones en quienes se indujo deficiencia de cobre han demostrado que la deficiencia de cobre está relacionada con defectos en la función de neutrófilos y macrófagos y células NK. Entre estos se encontró disminución de recuentos de neutrófilos, defectos en la explosión respiratoria como mecanismo antimicrobiano. Al ser estas, células importantes en la respuesta inmune innata, las deficiencias de cobre se ven reflejadas en aumento de la susceptibilidad a infecciones. Otros estudios demostraron efectos negativos, de la deficiencia de cobre, sobre la inmunidad humoral evidentes por deficiencias en la producción de anticuerpos y en la proliferación y activación de linfocitos T [10].

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten presentar el siguiente conjunto de conclusiones:

- El 80% de los animales estudiados fueron menores de 24 meses, lo cual indica la mayor susceptibilidad de animales jóvenes frente a la infección viral.
- El tipo de papiloma más comúnmente encontrado fue el coliflor (PVB tipo 3) en un 76%.
- El tipo de papiloma más resistente a tratamiento fue el pedunculado (PVB tipo 2).
- Solo uno de los semovientes tratados presentó eliminación total de los papilomas, este fue tratado con Diaceturato.
- Ninguno de los tratamientos logró causar reducción del número de papilomas en todos los semovientes del grupo.
- En el grupo que recibió tratamiento placebo, 4 de los bovinos demostró reducción en el número de papilomas, indicando la habilidad del organismo de autolimitar la enfermedad, hallazgo consistente con reportes de la literatura.
- El tratamiento con el arete de cobre fue el más consistente en causar una reducción en el número de papilomas. Ocho de los diez bovinos en este grupo mostraron reducción en el número de papilomas.
- Al comparar la eficacia de los cuatro tratamientos no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre estos.
- Resultados de este estudio hacen evidente la variabilidad de presentación y respuesta a tratamiento en bovinos con Papilomatosis.

REFERENCIAS

- [1] CARTER, G.R., WISE, D.J. and FLORES, E.F. A concise review of veterinary virology [Online]. Available: www.ivis.org [citado 8 Febrero 2005].
- [2] RIVERA, B., VARGAS, J.C., ARCILA, C.P., MARQUEZ, R., PEREZ, J.F., TORO, G. y MARTINEZ, J.P. Propuesta para la clasificación de los sistemas de producción de leche: el caso de la zona de influencia de Manizales. *Revista Sistemas de Producción*, 10(1), 1999, p. 1-104.
- [3] MARTINEZ, N.B. y ERAZO, R. Evaluación y diseño de histovacunas empleadas para tratamiento de papilomatosis bovina. *Memorias XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas*. San Juan de Pasto (Colombia): 2002.

- [4] ARICAPA, H.J., DUSSAN, C. y MANRIQUE, H. Evaluación de la eficiencia de una vacuna contra la papilomatosis bovina frente a tres tratamientos diferentes. *Revista de Veterinaria y Zootecnia de Caldas*, 12(2), 2003, p. 48-55.
- [5] RUIZ, D. y RUIZ, J. Estudio comparativo de cuatro tratamientos para la papilomatosis bovina en tres veredas del municipio de Cajibío departamento del Cauca [Tesis de pregrado]. Popayán, (Colombia): Universidad Antonio Nariño, Facultad de Medicina Veterinaria, 2004, 42 p.
- [6] PEÑA, F., MARÍN, A., CAMACHO, A., AVELLO, E., ARCE, M.A. y PEREZ, C.G. Thuja (200 ch, 1000ch) en el tratamiento de la papilomatosis bovina. *Revista Electrónica de Veterinaria RED-VET*, 5(06), 2005, p. 1-6.
- [7] HEMMATZADEH, F., FATEMI, A. and AMINI, F. Therapeutic effects of fig tree latex on bovine papillomatosis. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 50(10), 2003, p. 473-476.
- [8] FRANCO DA SILVA, L.A., RODRIGUES DE SOUSA, V., MACHADO, M.A., GUIMARAES, L., SOARES, M.C., RABELO, R.E., DE MOURA, M.I., SOARES, L.K. y DA CUHNA, P.H.J. Efecto del etilendinitrilo tetraceto de calcio y cobre y del lactobionato de cobre parenteral en el tratamiento de la papilomatosis cutánea bovina. *Revista Técnica Pecuaria en Mexico*, 45(3), 2007, p. 289-297.
- [9] JARRETT, W.F.H. In: *Advances in Viral Oncology. The natural history of bovine papillomavirus infections*. vol 5., New York (USA): 1985, p. 83 –101.
- [10] BOHMAN, M., O`CONNOR, J.M., HANNIGAN, B.M. and DTRAIN, J.J. The immune system as a physiological indicator of marginal copper status? *British Journal of Nutrition*, 87, 2002, p. 393-403.