

Fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales en una tortuga verde (*Chelonia mydas*)

JORGE ORÓS,¹ JOEL K. LACKOVICH,² ELLIOTT R. JACOBSON,³ DANIEL R. BROWN,⁴
AYOSE TORRENT;¹ SYLVIA TUCKER³ & PAUL A. KLEIN⁵

¹Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Facultad de Veterinaria,
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
Trasmontaña, 35416 Arucas (Las Palmas), España.
e-mail: oros@cicei.ulpgc.es

²Department of Molecular Genetics and Microbiology, College of Medicine,
University of Florida, Gainesville, Florida 32610, USA.

³Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine,
University of Florida, Gainesville, Florida 32611, USA.

⁴Department of Pathobiology, College of Veterinary Medicine, University of Florida,
Gainesville, Florida 32611, USA.

⁵Department of Pathology, Immunology, and Laboratory Medicine, College of Medicine,
University of Florida, Gainesville, Florida 32610, USA.

Resumen: Se describen los hallazgos anatomopatológicos observados en un ejemplar de tortuga verde (*Chelonia mydas*) que varó en aguas del condado de Monroe, Florida, con fibropapilomatosis. Los tumores cutáneos fueron extirpados quirúrgicamente, pero 11 meses después recidivaron y el ejemplar se eutanasió debido a la detección mediante técnicas de imagen de tumores en ambos pulmones. La necropsia reveló la presencia de 17 nódulos tumorales bien delimitados en ambos pulmones; estos tumores se identificaron histológicamente como fibromas constituidos por discreto número de fibroblastos y abundantes fibras de colágeno. En la mucosa esofágica se detectaron dos fibromas. Los fibropapilomas cutáneos mostraron proyecciones papilares caracterizadas por un moderado a marcado grado de hiperqueratosis ortoqueratósica, y una moderada hiperplasia del epitelio estratificado escamoso. Se observaron huevos de trematodos spirorchidos en el componente dermal de algunos de los fibropapilomas cutáneos, y en bazo, hígado, vesícula biliar, riñón, vejiga urinaria, paratiroides y glándulas adrenales. Para determinar la asociación entre una posible infección por herpesvirus, considerado posible agente etiológico de la fibropapilomatosis en tortugas marinas, y los tumores observados en este animal se utilizó una técnica de PCR basada en el empleo de un primer frente a una región consenso del genoma herpesviral. Todos los fibropapilomas cutáneos así como los fibromas viscerales demostraron positividad frente a herpesvirus. Se discute brevemente la posible etiología de la enfermedad, así como sus implicaciones en el tratamiento quirúrgico de la misma.

Palabras clave: *Chelonia mydas*, fibromas, fibropapilomatosis, herpesvirus, PCR, tortuga verde.

Abstract: Cutaneous fibropapillomas and visceral fibromas in a green sea turtle (*Chelonia mydas*).— We describe the pathological findings in a green sea turtle (*Chelonia mydas*) with fibropapillomatosis stranded in the Monroe County, Florida. Fibropapillomas were surgically removed, but they recurred eleven months later, and euthanasia was performed because it was found to have internal tumors in the lungs. Necropsy revealed 17 well-demarcated nodules in both lungs. These tumors were histologically identified as fibromas composed of spindle-shaped fibroblast-like cells with more abundant amounts of intervening collagen. Two fibromas were also detected on the mucosal surface of the esophagus. Cutaneous fibropapillomas showed papillary projections characterized by a moderate to marked degree of orthokeratotic hyperkeratosis, and a mild hyperplasia of the stratified squamous epithelium. Spirorchid trematode eggs were detected in the stroma of some cutaneous fibropapillomas, and in the spleen, liver, gall bladder, kidney, urinary bladder, parathyroid, and adrenal glands. Consensus primer PCR methodology was used to determine a possible association between a herpesvirus infection and the individual tumors in this sea turtle. All cutaneous fibropapillomas and visceral fibromas tested positive for herpesvirus. The etiology of the disease, and the implications in the surgical treatment, are discussed briefly.

INTRODUCCIÓN

La fibropapilomatosis de tortugas marinas fue inicialmente descrita en ejemplares adultos de tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturados en 1930 en las costas de Florida (LUCKÉ, 1938; SMITH & COATES, 1938). Posteriormente la enfermedad fue detectada también en ejemplares mantenidos en cautividad en las Islas Caimán (JACOBSON *et al.*, 1989). Desde entonces la fibropapilomatosis de las tortugas marinas se considera una enfermedad de distribución mundial, y se han realizado numerosas observaciones de la misma en las costas de Hawaii, Puerto Rico, Barbados, Islas Vírgenes, Panamá, Colombia, Venezuela, Belice, Australia y, más recientemente, Indonesia (BALAZS, 1991; EHRHART, 1991; JACOBSON *et al.*, 1991; TEAS, 1991; ADNYANA *et al.*, 1997). La prevalencia de la enfermedad se ha ido incrementando de forma alarmante a partir de los años 80, de tal modo que en determinadas áreas de Florida y Hawaii, ésta se estima actualmente en más de un 50%, llegando a alcanzar el 92% en algunas áreas (BALAZS, 1991). Aunque la enfermedad fue inicialmente descrita en *Chelonia mydas* (de donde toma su denominación, GTFP, green turtle fibropapillomatosis), también se ha referenciado en ejemplares de *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Eretmochelys imbricata* y *Natator depressus* (HERBST, 1994). La mayor incidencia se observa en individuos de 10-30 kg y 40-90 cm de longitud recta del caparazón, si bien pueden verse afectados ejemplares juveniles, subadultos y adultos (EHRHART, 1991).

La enfermedad se caracteriza por la aparición de múltiples tumores cutáneos de naturaleza fibroepitelial en cuello, extremidades, cola, regiones axilares e inguinales, caparazón y plastrón, mostrándose las tortugas afectadas caquéticas, débiles y anémicas (JACOBSON *et al.*, 1989). Los fibropapilomas oculares tienen su origen en párpado, conjuntiva, limbo y córnea, conllevando la ceguera de los ejemplares afectados en la mayoría de los casos (BROOKS

et al., 1994). También se han descrito fibromas en órganos internos como pulmón, hígado, riñón y tracto gastrointestinal, originando alteraciones en la flotabilidad, necrosis por presión del parénquima hepático, fallo renal y obstrucción intestinal, respectivamente (HERBST, 1994). Mediante estudios de citometría de flujo se ha confirmado el carácter no maligno de las células de estas proliferaciones tumorales (PAPADI *et al.*, 1995).

Histológicamente los tumores cutáneos muestran una hiperplasia epidérmica papilar y/o proliferación hiperplásica de la dermis, mostrándose como lesión inicial una degeneración vacuolar de las células epidérmicas del estrato basal (JACOBSON *et al.*, 1989). Es frecuente la observación de huevos de trematodos spirorchidos en el componente dermal de los fibropapilomas (AGUIRRE *et al.*, 1998), llegando incluso a considerarse como un posible agente etiológico de esta enfermedad, aunque estudios experimentales consistentes en la inoculación intradérmica de suspensiones de trematodos spirorchidos han descartado esta teoría (HERBST *et al.*, 1994). Los tumores viscerales han sido identificados en todos los casos como fibromas y/o mixofibromas (NORTON *et al.*, 1990).

Estudios experimentales han demostrado que un agente infeccioso subcelular y sensible al cloroformo está implicado en la etiopatogenia de estos tumores, sospechándose de un herpesvirus denominado provisionalmente herpesvirus quelónido nº 5 (Ch HV-5) (HERBST *et al.*, 1995; HERBST *et al.*, 1996). Mediante estudios de microscopía electrónica se han detectado inclusiones víricas intranucleares compatibles con las características de la familia Herpesviridae (JACOBSON *et al.*, 1991), si bien hasta el momento no se ha logrado aislar el agente etiológico. Recientemente muestras de tumores procedentes de ejemplares de *Chelonia mydas* en Hawaii han mostrado actividad transcriptasa inversa, confirmándose mediante microscopía electrónica la presencia de partículas víricas compatibles con retrovirus (CASEY *et al.*, 1996, 1997). Con el fin de determinar la asociación

entre una infección por herpesvirus y la presencia de tumores mediante técnicas más sensibles que el aislamiento vírico y/o la microscopía electrónica se han utilizado recientemente técnicas de PCR con resultados positivos en ejemplares de *Chelonia mydas* y *Caretta caretta* (LACKOVICH *et al.*, 1998a). Describimos a continuación un caso clínico de fibropapilomatosis cutánea con presencia de fibromas pulmonares y esofágicos en un ejemplar de tortuga verde (*Chelonia mydas*), estando asociado a la presencia de un nuevo herpesvirus quelónido.

CASO CLÍNICO

En septiembre de 1996 fue encontrada un ejemplar hembra de tortuga verde (*Chelonia mydas*) en aguas del condado de Monroe, Florida, USA (22°42'N; 81°06'W), mostrando fibropapilomas sobre ambos ojos y en las regiones axilares e inguinales. Las dimensiones de la tortuga fueron las siguientes: longitud recta del caparazón 49.2 cm; longitud curva del caparazón 51.8 cm; anchura recta 38.6 cm; anchura curva 44.2 cm. Dado el estado caquético en que se encontró al animal se decidió trasladarlo al College of Veterinary Medicine, University of Florida, con el fin de proceder a la extirpación quirúrgica de los tumores cutáneos mediante criocirugía según los procedimientos previamente descritos (MORRIS & BALAZS, 1994). El animal fue mantenido en cautividad en condiciones adecuadas (CAMPBELL, 1996) durante 11 meses. Transcurrido este tiempo se detectaron recidivas de los tumores cutáneos y alteraciones en su flotabilidad, así como la presencia de tumores en ambos pulmones utilizando técnicas de resonancia magnética (SILVERMAN & JANSSEN, 1996), por lo que tras la obtención del correspondiente permiso del U. S. Fish and Wildlife Service, se decidió eutanasiar al animal.

Necropsia

La necropsia se realizó según los procedimientos previamente descritos en tortugas

marinas (RAINEY, 1981; WOLKE & GEORGE, 1981; CAMPBELL, 1996). En la piel se observaron cinco tumores identificados como fibropapilomas, de superficie lisa y color gris oscuro, localizados sobre la región craneoventral de ambas extremidades anteriores y sobre la región axilar de la extremidad anterior derecha (Figura 1). Las dimensiones de los tumores oscilaron entre 1 × 1 cm y 1 × 8 cm.

En los pulmones se detectaron 17 tumores (Figura 2) con el siguiente patrón de distribución: sobre la superficie ventral de ambos pulmones se observaron 5 nódulos de color blanquecino, no pediculados, con unas dimensiones que oscilaron entre 1 × 1 cm y 2 × 3 cm., demostrándose la presencia de parénquima pulmonar alrededor de los bordes de las nodulaciones. También se detectaron mediante palpación 6 nódulos tumorales de más pequeño tamaño (< 0.7 cm. de diámetro) embebidos en el parénquima pulmonar del pulmón izquierdo. Finalmente se detectaron 6 tumores de aproximadamente 1 cm. de diámetro sobre la superficie dorsal de ambos pulmones. Al corte todos los tumores pulmonares presentaron una superficie de sección blanca, firme y homogénea salvo el tumor más craneal que presentó una superficie de sección irregular. Se detectó la presencia de abundante mucus en el bronquio extrapulmonar izquierdo y en los



Figura 1.- Tortuga verde (*Chelonia mydas*) mostrando recidivas de fibropapilomas cutáneos (flechas) en la extremidad.

Figure 1.- Green sea turtle (*Chelonia mydas*) showing recurrences of cutaneous fibropapillomas (arrows) on the flipper.



Figura 2.- Fibromas de diferente tamaño (flechas) en ambos pulmones.

Figure 2.- Fibromas showing different sizes (arrows) on the lungs

principales bronquios intrapulmonares del pulmón izquierdo.

El hígado mostró la presencia de múltiples focos de decoloración de aproximadamente 2 mm de diámetro sobre la superficie dorsal. No se observaron lesiones significativas en la cavidad oral. En el esófago en las proximidades de la región cardinal se detectaron dos nódulos tumorales, uno de ellos con un diámetro de 1 cm, claramente pediculado, y el otro (0.4 × 0.2 cm) no pediculado que infiltraba la superficie mucosa (Figura 3). Al corte ambas nodulaciones fueron homogéneas presentando una superficie de color blanco y consistencia firme. El estómago contenía moderada cantidad de restos de alimento. En la luz de las cámaras cardíacas, así como en la aorta abdominal se detectaron trematodos spirorchidos en moderado número. No se observaron lesiones significativas en el resto de los órganos estudiados. No se observaron parásitos a nivel macroscópico en la luz gastrointestinal.

Histopatología

Se tomaron muestras de todos los tumores cutáneos, piel aparentemente normal, tráquea, pulmón con y sin nodulaciones, pericardio, corazón, bazo, hígado, vesícula biliar, riñones, vejiga urinaria, mucosa oral, esófago, nódulos esofágicos, estómago, intestino anterior y posterior, tiroides, paratiroides, timo, glándulas adrenales, arteria aorta y encéfalo, se fijaron

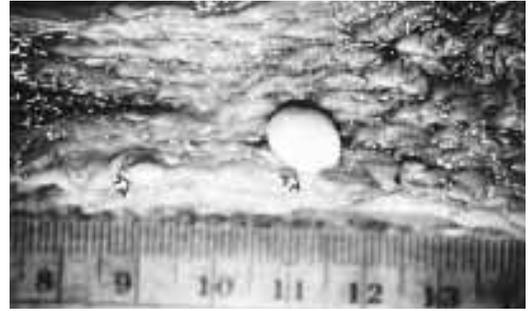


Figura 3.- Esófago mostrando dos fibromas (flechas) sobre la mucosa.

Figure 3.- Esophagus showing two fibromas (arrows) on the mucosa.

en formol tamponado al 4%, se procesaron según los procedimientos rutinarios y se incluyeron en parafina. Las correspondientes secciones de un grosor de 4 (m se tiñeron con hematoxilina-eosina. Las secciones correspondientes a las nodulaciones pulmonares y esofágicas se tiñeron también mediante la tinción de Van Giesson y PAS.

Todos los tumores cutáneos mostraron proyecciones papilares caracterizadas por una hiperqueratosis ortoqueratósica de moderada a marcada, y por una moderada hiperplasia del epitelio estratificado escamoso. El estroma se componía de fibroblastos bien diferenciados con áreas densas de fibras de colágeno. Las zonas más profundas del componente estromal mostraron menor densidad celular que el estroma inmediatamente subyacente al componente epitelial. En base a sus características histológicas todos los tumores cutáneos fueron identificados como fibropapilomas. Dos de los tumores cutáneos mostraron necrosis de las células basales de la epidermis, con vacuolización y moderada infiltración por células inflamatorias mononucleares. En el estroma de dos de los fibropapilomas cutáneos se observaron huevos de trematodos spirorchidos asociados a reacción inflamatoria compuesta por células gigantes multinucleadas. No se observaron cuerpos de inclusión a nivel epitelial en ninguno de los tumores cutáneos.

Los nódulos observados macroscópicamente a nivel pulmonar se componían de un discreto número de células fusiformes identificadas como fibroblastos, con una gran cantidad de fibras de colágeno, así evidenciado mediante la tinción de Van Giesson, identificándose histológicamente como fibromas (Figura 4). Estos fibromas se hallaron bien delimitados del parénquima pulmonar adyacente, mostrándose tapizados por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, con varios grados de hiperplasia epitelial en algún caso. En el tejido conectivo de los fibromas pulmonares se observó la presencia de vasos sanguíneos de características histológicas normales, con ligera reacción inflamatoria perivascular en algunos casos. Se observaron varios huevos de trematodos con una cápsula distintiva de color marrón consistente con la mostrada por miembros de la familia Spirorchidae en el estroma de algunos de estos tumores, asociándose a moderada reacción inflamatoria compuesta por células mononucleares y células gigantes. Se observaron igualmente proliferaciones linfoides de pequeñas dimensiones distribuidas multifocalmente en el intersticio pulmonar.

Los dos nódulos observados macroscópicamente en el esófago se correspondieron con proliferaciones bien delimitadas de tejido conectivo compuesto por abundantes fibras de colágeno y discreto número de fibroblastos a nivel de submucosa esofágica, por lo que fueron identificados como fibromas. El epitelio de la mucosa esofágica presentó características histológicas normales.

El bazo presentó moderada depleción folicular y presencia de numerosos granulocitos en la pulpa esplénica roja, así como discreto número de huevos de trematodos con moderada reacción inflamatoria asociada. El corazón mostró moderada degeneración miocárdica multifocal, así como ligero edema pericárdico. El hígado mostró una degeneración hidrópica difusa de hepatocitos, serositis focal, y discreto número de huevos de trematodos asociados con células gigantes multinucleadas.



Figura 4.- Fibroma pulmonar (F) bien delimitado del tejido pulmonar adyacente. El tumor se halla tapizado por un epitelio respiratorio ciliado (flecha). H-E 3×20

Figure 4.- Pulmonary fibroma (F) well demarcated from adjacent normal pulmonary tissue. The tumor is covered by a ciliated respiratory epithelium (arrow). H-E 3×20

La vesícula biliar mostró una moderada colecistitis crónica, observándose la presencia de huevos de trematodos spirorchidos en la lámina propia asociados con células gigantes multinucleadas. No se observaron lesiones significativas a nivel renal, salvo la presencia de un huevo de trematodo sin reacción inflamatoria en una sección. La vejiga urinaria presentó una moderada cistitis crónica caracterizada por la presencia de células mononucleares en la submucosa. En la glándula paratiroides se observaron numerosos huevos de trematodos con discreta reacción inflamatoria. En las glándulas adrenales se detectaron igualmente huevos de trematodos pero no se observó reacción inflamatoria asociada a su presencia. No se observaron lesiones microscópicas en el resto de los órganos estudiados.

Detección de herpesvirus mediante PCR

Se tomaron muestras de aproximadamente 0.5 g de todos los fibropapilomas cutáneos, fibromas pulmonares y esofágicos y de piel aparentemente sana a distancias de 2 cm, 3 cm, y 4 cm de los tumores cutáneos. Para la detección de herpesvirus en estas muestras mediante técnicas de PCR se utilizó un primer frente a una región consenso del genoma herpesviral (VANDEVANTER *et al.*, 1996). La técnica se

realizó según lo descrito previamente (LAC-KOVICH *et al.*, 1998a). Como control positivo se utilizó una muestra de virus vacunal Varicella Zoster (VZV) (Merk & Co.), amplificándose mediante PCR una banda de 224 pares de bases, mientras que como control negativo se empleó agua estéril autoclavada.

Las muestras cutáneas tomadas a 2 cm de los fibropapilomas mostraron positividad frente a herpesvirus, mientras que las tomadas a 3 y 4 cm resultaron negativas. Todos los fibropapilomas cutáneos así como los fibromas pulmonares y esofágicos demostraron positividad frente a herpesvirus (Figuras 5 y 6). La sensibilidad molecular del PCR se determinó mediante diluciones seriadas del virus Varicella Zoster (VZV), teniendo un límite de detección de 1.1 equivalentes genómicos VZV por 100 ng de DNA.

DISCUSIÓN

Las lesiones cutáneas mostradas por este ejemplar de *Chelonia mydas* son las típicas descritas en los casos de fibropapilomatosis. Sin embargo, a diferencia de lo descrito por JACOBSON *et al.* (1991) no observamos la pre-

sencia de cuerpos de inclusión intranucleares en ninguna de las células epidérmicas de los fibropapilomas analizados. Ello podría deberse a que en el transcurso de la patogénesis de esta enfermedad la infección viral productiva ocurre durante períodos de tiempo muy limitados (JACOBSON *et al.*, 1991).

Las nodulaciones pulmonares fueron identificadas como fibromas en base a las características histológicas. La extensión de los tumores explica los problemas de flotación manifestados por el animal y justifica igualmente su eutanasia. El número de fibromas observados en este animal supera a las previas descripciones de afectación pulmonar de la enfermedad (NORTON *et al.*, 1990). Por otra parte, no existen descripciones de fibromas esofágicos asociados con la enfermedad. En un estudio reciente se observó que hasta el 61% de las tortugas marinas con fibropapilomas cutáneos en Hawaii presentaron fibropapilomas de carácter invasivo en orofaringe (BALAZS *et al.*, 1997). Sin embargo no existen descripciones de tumores en cavidad oral entre las tortugas marinas analizadas en Florida, sospechándose que las vías de exposición al agente etiológico de las diferentes re-



Figura 5.- Detección de herpesvirus mediante PCR sobre las muestras cutáneas. 1: marcadores de pesos moleculares, 2: control positivo VZV, 3: control negativo, 4: fibropapiloma positivo, 5, 6: muestras de piel sana negativas.

Figure 5.- Detection of herpesvirus by PCR on the cutaneous samples. 1: DNA size markers, 2: positive control VZV, 3: negative control, 4: positive fibropapilloma, 5, 6: negative normal skin samples.



Figura 6.- Detección de herpesvirus mediante PCR sobre los fibromas viscerales. 1: marcadores de pesos moleculares, 2: control positivo VZV, 3: control negativo, 4, 5, 6: fibromas pulmonares positivos, 7: fibroma esofágico positivo.

Figure 6.- Detection of herpesvirus by PCR on the visceral fibromas. 1: DNA size markers, 2: positive control VZV, 3: negative control, 4, 5, 6: positive pulmonary fibromas, 7: positive esophageal fibroma.

giones anatómicas puedan ser diferentes entre las tortugas que habitan Hawaii y Florida. Otra posibilidad argumentada es la alta parasitación por *Ozobranchus* sp. a nivel oral en las tortugas procedentes de Hawaii; las pequeñas lesiones orales originadas por estos parásitos pudieran predisponer a la infección por el agente etiológico de la fibropapilomatosis (BALAZS *et al.*, 1997).

Los trematodos de la familia Spirorchidae se consideran parásitos relativamente frecuentes en el sistema cardiovascular de las tortugas marinas, e incluyen miembros de los géneros *Amphiorchis*, *Carettacola*, *Haemoxenicon*, *Hapalotrema*, *Laeredius*, *Monticellius*, *Neospirochis* y *Squaroacetabulum* (LAUCKNER, 1985). Se han descrito igualmente las lesiones asociadas a la presencia de huevos de estos trematodos en diferentes localizaciones anatómicas de *Caretta caretta* (WOLKE *et al.*, 1982) y *Chelonia mydas* (GREINER *et al.*, 1980; GLAZEBROOK & CAMPBELL, 1990a, b). Sin embargo todos los estudios publicados coinciden en considerar a estos parásitos como agentes no directamente responsables como causa primaria de la enfermedad (HERBST *et al.*, 1994; HERBST *et al.*, 1995; AGUIRRE *et al.*, 1998). Recientemente se ha publicado un estudio serológico en 46 tortugas el que no se demostró asociación entre niveles de anticuerpos frente a estos trematodos y presencia de fibropapilomas cutáneos (HERBST *et al.*, 1998). La presencia de huevos de estos parásitos en los capilares dermales de los fibropapilomas cutáneos altamente vascularizados es una mera expresión del grado de parasitación del animal. Sin embargo la inmunosupresión detectada en tortugas con fibropapilomas puede predisponer a una spirorchidiasis secundaria (AGUIRRE *et al.*, 1995).

Miembros de la familia Herpetoviridae han sido involucrados en la patogenia y oncogénesis en varias especies animales, incluyendo peces (*Oncorhynchus masou*) (ANDERS & YOSHIMIZU, 1994), mamíferos como el elefante africano, *Loxodonta africana* (JACOBSON *et*

al., 1986), y reptiles como el lagarto verde europeo, *Lacerta viridis* (RAYNAUD & ADRIAN, 1976). Por otra parte, el desarrollo de técnicas de PCR utilizando un primer consenso para la detección del genoma herpesviral en muestras individualizadas de fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales en este animal, coinciden con estudios previos de la enfermedad en los que se identificaron mediante microscopía electrónica partículas víricas compatibles en tamaño, morfología y localización intranuclear con herpesvirus (JACOBSON *et al.*, 1989, 1991). La positividad frente a herpesvirus mediante PCR de todos los fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales de esta tortuga evidencia una posible etiología herpesviral, así como una posible relación entre la presencia del virus y el desarrollo del tumor.

En un reciente estudio en el que se analizaron mediante PCR fibropapilomas cutáneos de 19 tortugas verdes y 4 tortugas bobas varadas en las costas de Florida, aproximadamente el 96% de los tumores mostraron positividad frente a herpesvirus, resultando negativos tan sólo 4 de 93 tumores analizados (LACKOVICH *et al.*, 1998a). Los resultados negativos se explicaron en base al hecho descrito que las secuencias de DNA viral no siempre pueden ser detectadas en células transformadas, sugiriéndose que no es necesaria la retención de fragmentos de DNA herpesviral para mantener el estado de transformación celular (DI LUCA *et al.*, 1995). En dicho estudio, y con el fin de determinar si el mismo virus infecta a ambas especies de tortugas, se secuenció una región interior del gen de la DNA polimerasa del herpesvirus asociado a la fibropapilomatosis, difiriendo tan sólo en 1 de 61 aminoácidos, concluyéndose que el mismo herpesvirus infecta a ejemplares de *Caretta caretta* y *Chelonia mydas* (LACKOVICH *et al.*, 1998a).

Actualmente, el método más efectivo en el tratamiento de la fibropapilomatosis es la resección quirúrgica de los tumores, si bien son frecuentes las recidivas. Una característica de los herpesvirus es su capacidad de permane-

cer latentes durante un período de tiempo variable, y reactivarse ante el estímulo apropiado (WHITLEY & GNANN, 1993). Las recidivas observadas en el presente caso podrían explicarse atendiendo al hecho de la detección de DNA herpesviral en las muestras de piel aparentemente sanas tomadas a una distancia de 2 cm de los tumores cutáneos, por lo que se recomendaría la extirpación quirúrgica de los fibropapilomas y de un área de piel circundante en un radio no inferior a 3 cm.

Aunque la fibropapilomatosis en algunos vertebrados terrestres está asociada a la infección por papilomavirus pertenecientes a la familia Papovaviridae (COSGROVE & FAY, 1981), los estudios de LACKOVICH *et al.* (1998b) sobre detección de papilomavirus mediante técnicas de PCR en fibropapilomas cutáneos resultaron negativos, lo que ya había sido sugerido previamente mediante estudios de microscopía electrónica, inmunocitoquímica y pruebas de ácidos nucleicos. Otros estudios llevados a cabo en Hawaii basados en la detección de actividad transcriptasa inversa en muestras procedentes de tortugas con fibropapilomatosis y tortugas sanas, apuntan hacia un posible retrovirus como posible agente etiológico de la enfermedad (CASEY *et al.*, 1996, 1997), si bien se detectó actividad transcriptasa inversa tanto en tortugas sanas como en tortugas afectadas.

En un estudio serológico recientemente publicado llevado a cabo en 46 tortugas (HERBST *et al.*, 1998) la alta asociación encontrada entre niveles de anticuerpos frente a herpesvirus y desarrollo de la fibropapilomatosis cutánea fue compatible con la hipótesis de una etiología por herpesvirus, tal como había sido apuntado previamente (JACOBSON *et al.*, 1991; HERBST *et al.*, 1995). Nuestro estudio también demuestra la asociación entre un herpesvirus detectado mediante técnicas de PCR y las lesiones tumorales descritas en esta tortuga. Sin embargo, dado que hasta el momento no se ha logrado aislar dicho herpesvirus y, por tanto, no se han completado los postulados de KOCH,

son necesarios futuros estudios para determinar la etiología y patogenia de la fibropapilomatosis de las tortugas marinas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por una beca de la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias concedida al primer autor.

REFERENCIAS

- ADNYANA, W., LADDS, P. W. & BLAIR, D. (1997): Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. *Aust. Vet. J.*, 75(10): 737-742.
- AGUIRRE, A. A., BALAZS, G. H., SPRAKER, T. R. & GROSS, T. S. (1995): Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiol. Zool.*, 68: 831-854.
- AGUIRRE, A. A., SPRAKER, T. R., BALAZS, G. H. & ZIMMERMAN, B. (1998): Spiroorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. *J. Wildl. Dis.*, 34 (1): 91-98.
- ANDERS, K. & YOSHIMIZU, M. (1994): Role of viruses in the induction of skin tumors and tumor-like proliferations of fish. *Dis. Aquat. Org.*, 19: 215-232.
- BALAZS, G. H. (1991): Current status of fibropapillomas in the Hawaiian green turtle, *Chelonia mydas*, pp. 47-57, in: BALAZS, G. H. & POOLEY, S. G. (eds.), *Research Plan for Marine Turtle Fibropapilloma*. NOAA-Technical Memorandum NMFS-SWFC-156. Honolulu, Hawaii.
- BALAZS, G. H., AGUIRRE, A. A. & MURAKAWA, S. K. K. (1997): Occurrence of oral fibropapillomas in the Hawaiian green turtle: differential disease expression. *Mar. Turtle Newsl.*, 76, 1-2.
- BROOKS, D. E., GINN, P. E., MILLER, T. R., BRAMSON, L. & JACOBSON, E. R. (1994):

- Ocular fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). *Vet. Pathol*, 31: 335-339.
- CAMPBELL, T. W. (1996): Sea turtle rehabilitation, pp. 427-436, in: MADER, D. R. (ed.) *Reptile Medicine and Surgery*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- CASEY, R. N., QUACKENBUSH, S. L., WORK, T. M., BALAZS, G. H., BOWSER, P. R. & CASEY, J. W. (1996): Identification of retroviruses associated with unaffected green sea turtles and turtles with fibropapillomas. *Aquavet*, 20: 14-17.
- CASEY, R. N., QUACKENBUSH, S. L., WORK, T. M., BALAZS, G. H., BOWSER, P. R. & CASEY, J. W. (1997): Evidence for retrovirus infections in green turtles *Chelonia mydas* from the Hawaiian Islands. *Dis. Aquat. Org.*, 31: 1-7.
- COSGROVE, G. E. & FAY, L. D. (1981): Viral tumors, pp. 424-428, in: DAVIS, J. W., KARSTAD, L. H., & TRAINER, D. O. (eds.), *Infectious Diseases of Wild Animals*, 2nd edition. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- DI LUCA, D., CASELLI, E. & CASSAI, E. (1995): Herpes simplex virus as a cooperating agent in human genital carcinogenesis, pp. 281-308, in: BARBANTI-BRODANO (ed.), *DNA tumor viruses: oncogenic mechanisms*. Plenum Press, New York.
- EHRHART, L. M. (1991): Fibropapillomas in green turtles of the Indian River lagoon, Florida: distribution over time and area, pp 59-61, in: BALAZS, G. H. & POOLEY, S. G. (eds.), *Research Plan for Marine Turtle Fibropapilloma*. NOAA-Technical Memorandum NMFS-SWFC-156. Honolulu, Hawaii.
- GLAZEBROOK, J. S. & CAMPBELL, R. S. F. (1990a): A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. I. Farmed turtles. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 83-95.
- GLAZEBROOK, J. S. & CAMPBELL, R. S. F. (1990b): A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 97-104.
- GREINER, E. C., FORRESTER, J. J. & JACOBSON, E. R. (1980): Helminths of mariculture-reared green turtles (*Chelonia mydas*) from Grand Cayman, British West Indies. *Proc. Helminth. Soc. Wash.*, 47: 142-144.
- HERBST, L. H. (1994): Fibropapillomatosis of marine turtles. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 4: 389-425.
- HERBST, L. H., GREINER, E. C., EHRHART, L. M., BAGLEY, D. A. & KLEIN, P. A. (1998): Serological association between spirorchidiasis, herpesvirus infection, and fibropapillomatosis in green turtles from Florida. *J. Wildl. Dis.*, 34: 496-507.
- HERBST, L. H., JACOBSON, E. R., MORETTI, R., BROWN, T., KLEIN, P. A. & GREINER, E. (1994): Progress in the experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis, p. 75, in: SCHROEDER, B. A. & WITHERINGTON, B. E. (eds.), *Proc. 13th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. US Dept. Commerce, NOAA-Technical Memorandum NMFS-SEFSC-341.
- HERBST, L. H., JACOBSON, E. R., MORETTI, R., BROWN, T., SUNDBERG, J. P. & KLEIN, P. A. (1995): Experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis using cell-free tumor extracts. *Dis. Aquat. Org.*, 22: 1-12.
- HERBST, L. H., MORETTI, R., BROWN, T. & KLEIN, P. A. (1996): Sensitivity of the transmissible green turtle fibropapillomatosis agent to chloroform and ultracentrifugation conditions. *Dis. Aquat. Org.*, 25: 225-228.
- JACOBSON, E. R., BUERGELT, C., WILLIAMS, B. & HARRIS, R. H. (1991): Herpesvirus in cutaneous fibropapillomas of the green sea turtle *Chelonia mydas*. *Dis. Aquat. Org.*, 12: 1-6.
- JACOBSON, E. R., MANSSELL, J. L., SUNDBERG, J. P., HAJJAR, L., REICHMANN, M. E., EHRHART, L. M., WALSH, M. & MURRU, F. (1989): Cutaneous fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). *J. Comp. Path.*, 101: 39-52.
- JACOBSON, E. R., SUNDBERG, J. P., GASKIN, J. M., KOLLIAS, G. V. & O'BANION, M. K. (1986): Cutaneous papillomas associated with

- herpesvirus-like infection in a herd of captive African elephants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189: 1075-1078.
- LACKOVICH, J. K., BROWN, D. R., HOMER, B. L., GARBER, R. L., MADER, D. R., MORETTI, R. H., PATTERSON, A. D., HERBST, L. H., ORÓS, J., JACOBSON, E. R., & KLEIN, P. A. (1998a): Association of a new Chelonid Herpesvirus with fibropapillomas of the green sea turtle, *Chelonia mydas*, and the loggerhead turtle, *Caretta caretta*. *18th International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, Mazatlán, Sinaloa, México.
- LACKOVICH, J. K., BROWN, D. R. & KLEIN, P. A. (1998b): PCR confirms absence of papillomavirus from sea turtle fibropapillomas. *18th International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, Mazatlán, Sinaloa, México.
- LAUCKNER, G. (1985). Diseases of Reptilia, pp. 543-626, in: KINNE, O. (ed) Diseases of marine animals, Vol IV, Part 2. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg.
- LUCKÉ, B. (1938): Studies on tumors in cold-blooded vertebrates. *Annual Reports of the Tortugas Laboratory, Carnegie Institute of Washington*, 38: 92-94.
- MORRIS, R. A. & BALAZS, G. H. (1994): Experimental use of cryosurgery to treat fibropapillomas in the green turtle, *Chelonia mydas*, p. 111, in: SCHROEDER, B. A. & WHITTINGTON, B. E. (compilers) *Proc. 13th Annu. Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology*. N. M. F. S. Tech. Memo. NOAA-TM-NMFS-SEFSC-341, Miami, FL.
- NORTON, T. M., JACOBSON, E. R. & SUNDBERG, J. P. (1990): Cutaneous fibropapillomas and renal myxofibroma in a green turtle, *Chelonia mydas*. *J. Wildl. Dis.*, 26(2): 265-270.
- PAPADI, G. P., BALAZS, G. H. & JACOBSON, E. R. (1995): Flow cytometric DNA content analysis of fibropapillomas in green turtles *Chelonia mydas*. *Dis. Aquat. Org.*, 22: 13-18.
- RAYNAUD, M. M. A. & ADRIAN, M. (1976): Lésions cutanées à structure papillomateuse associées à des virus chez le lézard vert (*Lacerta viridis* Laur). *C. R. S. Acad. Sci., Ser. D (Paris)*, 283: 845-847.
- RAINEY, W. E. (1981): Guide to sea turtle visceral anatomy. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-82, Panama City, FL.
- SILVERMAN, S. & JANSSEN, D. L. (1996): Diagnostic imaging, pp. 258-264, in: MADER, D. R. (ed.) *Reptile Medicine and Surgery*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- SMITH, G. M. & COATES, C. W. (1938): Fibroepithelial growths of the skin in large marine turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus). *Zoologica*, 23: 93-98.
- TEAS, W. (1991): Sea turtle stranding and salvage network: Green turtles, *Chelonia mydas*, and fibropapillomas, pp. 89-93, in: BALAZS, G. H. & POOLEY, S. G. (eds.) *Research plan for marine turtle fibropapilloma*. NOAA-TM-NMFS-SWFSC-156, National Oceanographic and Atmospheric Administration, Honolulu, Hawaii.
- VANDEVANTER, D. R., WARRENER, P., BENNETT, L., SCHULTZ, E. R., COULTER, S., GARBER, R. L. & ROSE, T. M. (1996): Detection and analysis of diverse Herpesviral species by consensus primer PCR. *J. Clin. Microb.*, 34: 1666-1671.
- WHITLEY, R. J. & GNANN, J. W. (1993): The epidemiology and clinical manifestations of herpes simplex virus infections, pp. 69-105, in: ROIZMAN, B., WHITLEY, R. J. & LÓPEZ, C. (eds.) *The human herpesviruses*. Raven Press, New York.
- WOLKE, R. E., BROOKS, D. R. & GEORGE, A. (1982): Spirorchidiasis in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): Pathology. *J. Wildl. Dis.*, 18: 175-185.
- WOLKE, R. E. & GEORGE, A. (1981): Sea turtle necropsy manual. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-24. Kingston, Rhode Island.

Recibido: 01/12/98

Aceptado: 15/05/99