

## Caracterización macroscópica, microscópica y ultraestructural de Fibropapilomas de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) de la playa “Escobilla” Oaxaca

Eduardo Reséndiz<sup>1\*</sup>, Carlos Cedillo-Peláez<sup>2</sup>, Martha Harfush-Meléndez<sup>3</sup>, Carlos Gerardo Salas-Garrido<sup>4</sup>, Fernando Constantino-Casas<sup>5</sup>

### Resumen

**La presencia y descripción de fibropapilomas en tortugas marinas datan de 1938 en Estados Unidos, la prevalencia de la enfermedad se incrementó en los 80's alrededor del mundo. La afección se caracteriza por la presencia de múltiples tumores fibroepiteliales en la superficie corporal; las tortugas afectadas por un periodo prolongado suelen mostrar emaciación y anemia. Literatura científica asigna al herpesvirus Chelonid tipo 5 (ChHV5) como el agente causal de la fibropapilomatosis. En este estudio se evaluaron 30 hembras *Lepidochelys olivacea* de la playa de la “Escobilla” Oaxaca, de acuerdo a la localización anatómica de los fibropapilomas se determinó su incidencia y se clasificó la presencia de los tumores como leve, moderado y severo. A cada individuo se le tomó una biopsia de 2 a 5 cm de diámetro para análisis de histopatología, inmunohistoquímica y microscopía electrónica de transmisión. El tamaño promedio de los tumores fue de 9.45 cm de diámetro, registrando 17 moderados, 10 leves y 3 severos. Las zonas corporales más afectadas fueron**

### Abstract

**Descriptions of Fibropapilloma occurrences in sea turtles dating back from 1938 in the US reveal a global increase of the disease since the 1980's. Fibropapillomatosis is characterized by the presence of multiple fibro epithelial tumors on the body surface. Affected turtles show signs of emaciation and anemia. The Chelonid herpesvirus type 5 (ChHV5) is proposed as the disease causative agent. In this study we evaluated 30 female turtles of the species, *Lepidochelys olivacea* from “Escobilla” Oaxaca, Mexico. According to the anatomical location of fibropapilloma presence, the frequency was determined and tumors were classified as mild, moderate and severe. A total of 30 biopsies, 2 to 5 cm in diameter were collected for histopathology, immunohistochemistry and transmission electron microscopy analyses. Tumor size mean: 9.45 cm. Tumor classification: moderate (n=17), mild (10) and severe (3). The most affected area was the right front flippers (n=12 tumors) followed by the neck and shoulders (n=9) left front flippers (n=8) and carapace (n=1). Tumors were**

<sup>1</sup>Proyecto Salud de Tortugas Marinas. Departamento Académico de Ciencias Marinas y Costeras, Área de Conocimiento de Ciencias del mar y de la tierra. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al Sur KM 5.5. Apartado Postal 19-B, C.P. 23080, La Paz Baja California Sur, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología Experimental, Torre de Investigación, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, Insurgentes Sur 3700-C, Colonia Insurgentes Cuicuilco, Delegación Coyoacán, C.P. 04530 México, D.F., México.

<sup>3</sup>Centro Mexicano de la Tortuga. Carretera Puerto Ángel- San Antonio Kilómetro 10, Col. Sta. María Tonameca, 70902 Mazunte, Oaxaca, México.

<sup>4</sup>Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Av. Universidad 3000, CP 04510. México D.F.

<sup>5</sup>Department of Veterinary Medicine, Cambridge Veterinary School. University of Cambridge. Madingley Rd, Cambridge CB3 0ES, Reino Unido.

\*Autor de correspondencia: jresendiz@uabcs.mx

las aletas anteriores derechas (12), seguidas del cuello y hombros (9), aletas anteriores izquierdas (8) y caparazón (1). Los tumores también fueron clasificados por su forma macroscópica como con aspecto de coliflor (20), 6 con aspecto verrugoso y 4 mixtos. La microscopía de luz reveló condiciones de hiperqueratosis, hiperplasia epidermal, acantosis, degeneración de células basales y del estrato espinoso, pústulas intraepidermales, infiltrado de heterófilos y linfocitos. El diagnóstico final fue de fibropapilomas cutáneos en 29 de los casos y solo un fibroma. No se observó inmunopositividad a antígenos de herpesvirus en ninguno de los casos. Ultraestructuralmente se observaron partículas virales similares a iridovirus y células epiteliales neoplásicas. Es necesario continuar con estudios que incluyan pruebas de ADN para determinar la participación del agente causal en el desarrollo de las neoplasias.

**Palabras clave:** Fibropapiloma, histopatología, microscopía electrónica de transmisión, Inmunohistoquímica, *L. olivacea*, Iridovirus.

classified macroscopically as: cauliflower-like ( $n=20$ ), 6 with warty appearance and 4 mixed. Light microscopy revealed: hyperkeratosis, epidermal hyperplasia, acanthosis, cell degeneration in basal and spinous layers, intraepidermal pustules, lymphocytes and infiltrated heterophile. The final diagnosis was cutaneous Fibropapillomas (29/30) and a fibroma. Immunopositive herpesvirus antigens were not observed. Ultrastructurally: iridovirus-like particles and neoplastic epithelial cells were observed. DNA tests are necessary to determine the role of the disease causative agent in the development of neoplasms.

**Key words:** Fibropapilloma, Histopathology, Transmission electron microscopy, Immunohistochemistry, *L. olivacea*, Iridovirus.

---

## Introducción

La fibropapilomatosis (FP) ha sido documentada en ganado vacuno, camélidos, cérvidos y caprinos (Jelinek y Tachezi 2005), comúnmente en estas especies los tumores son considerados benignos y se ha documentado su regresión espontánea (Jacobson *et al.* 1989). En tortugas marinas la FP es una enfermedad neoplásica proliferativa comúnmente asociada a un herpesvirus (Aguirre *et al.* 1994) identificado como herpesvirus Chelonid tipo 5 (ChHV-5 por sus siglas en inglés) (Ene *et al.* 2005). Se caracteriza por el desarrollo y división celular descontrolada que frecuentemente degenera en una proliferación anormal tal como metaplasias y/o displasias (Greenblatt *et al.* 2004). Las células que producen FP en tortugas marinas, siempre progresan a una neoplasia (Herbst y Klein 1995) no coordinada con la de los tejidos normales en la periferia, ocasionando en última instancia un tumor (Herbst *et al.* 1995). La complejidad en el estudio de tortugas marinas en vida libre dificulta precisar la etiología y patogénesis de FP en estos organismos (Aguirre *et*

*al.* 1998, Aguirre y Lutz 2004) y los impactos que tiene esta enfermedad en sus poblaciones (Aguirre y Balazs 2000). Neoplasias similares a las descritas en este estudio, fueron documentadas por primera vez en 1938 en una tortuga verde (*Chelonia mydas*) (Smith y Coates 1938) y se le dio el nombre de Fibropapiloma de tortuga verde (GTFP por sus siglas en inglés) (Herbst 1994) y desde entonces, se ha confirmado que FP afecta preferentemente a poblaciones de tortugas *C. mydas* de todo el mundo (Balazs y Chaloupka 2004a, Dethmers *et al.* 2006) siendo más frecuente en las regiones cálidas como el Caribe (Greenblatt *et al.* 2005), Hawái, Australia y Japón (Aguirre y Lutz 2004). Igualmente se ha asociado con áreas que tienen bajas tasas de renovación de agua, en particular cuando se encuentran contaminadas por residuos humanos (Aguirre *et al.* 1995, Herbst y Klein 1995). Hoy en día, esta enfermedad ya no es específica de las tortugas verdes, con frecuencia se observa también en tortugas amarillas (*Caretta caretta*), tortugas lora (*Lepidochelys kempii*) y tortugas golfinas

(*Lepidochelys olivacea*) (Balazs y Jacobson 1990, Aguirre *et al.* 1999, Greenblatt *et al.* 2005). En el Océano Pacífico, la evidencia genética indica que las tortugas verdes de Hawái pertenecen a una sola población y sugieren que la enfermedad es endémica en zonas específicas (Dutton *et al.* 2008) como en el este de Hawái (Work *et al.* 2003).

La FP se caracteriza por la presencia de tumores benignos simples y múltiples (Aguirre *et al.* 1999) que se encuentran en la superficie epitelial (Herbst *et al.* 1999), los cuales varían en tamaño, midiendo desde 0.1 hasta  $\geq 30$  cm de diámetro (Work y Balazs 1999). La incidencia de los tumores se observa frecuentemente desde el tercer párpado y en orden decreciente hasta los tejidos que rodean los ojos, conjuntiva, pliegues de unión de la boca (pico), cuello, hombros, regiones axilares e inguinales, cola y base de la cloaca (Brooks *et al.* 1994, Herbst 1994, Aguirre *et al.* 2002). Las tortugas afectadas con FP por un periodo considerable suelen mostrarse emaciadas, débiles, con anemia e inmunodeprimidas (Aguirre *et al.* 2002) y en casos graves si estos se encuentran cubriendo los ojos, pueden presentar ceguera (Greenblatt *et al.* 2004), durante la manifestación clínica de FP también se pueden presentar otro tipo de tumores en órganos internos (Jacobson *et al.* 1989, Aguirre *et al.* 1994). Particularmente los tumores grandes ocasionan problemas en la flotabilidad (Herbst *et al.* 1995), causan falla renal, oclusión gastrointestinal y en algunos casos muerte por inanición debido a la oclusión del esófago (Aguirre *et al.* 2002, Chaloupka *et al.* 2009). Varios estudios han registrado y descrito las principales características histológicas de la enfermedad (Jacobson *et al.* 1992, Herbst *et al.* 1999). Asimismo, mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) se han detectado partículas virales y se han asociado a las lesiones causada por la FP (Matushima *et al.* 2001, McGavin y Zachary 2007).

En este estudio, el objetivo fue evaluar neoplasias presentes en 30 tortuga golfinas mediante técnicas de histopatología, inmunohistoquímica y microscopía electrónica de transmisión.

## Material y métodos

Durante la arribada de tortuga golfina (*L. olivacea*) en agosto de 2006, en la playa de la "Escobilla" en Oaxaca, México; se llevaron a cabo 5 recorridos por la playa abarcando una distancia de 12 km en busca de hembras anidadoras. Durante estos recorridos se observaron más de 200 tortugas golfinas y mediante un análisis visual se seleccionaron 30 tortugas hembras en desove, que presentaron diversas lesiones cutáneas sugerentes de Fibropapilomas.

Para cada tortuga, posterior al desove y en cuanto comenzaron a cubrir los nidos, se midió el largo curvo del caparazón (LCC min) con una cinta métrica flexible siguiendo la metodología descrita por Bolten (1999).

Se practicó un examen minucioso de la superficie corporal, con orientación cráneo-caudal y dorso-ventral con particular énfasis en cabeza, ojos, conjuntiva, tercer párpado, pliegues de unión del pico, cuello, y aletas anteriores y posteriores. Para examinar la cola y la cloaca se levantaron las tortugas por la parte posterior del caparazón y se procedió a la revisión de la piel.

### Evaluación macroscópica de FP

Para llevar a cabo la evaluación macroscópica de las neoplasias, al inicio se registró la distribución anatómica de los tumores y se contabilizaron, asimismo se otorgó una clasificación morfológica según su aspecto (verrugoso o en coliflor) (adaptado de Jelinek y Tachezi 2005). Posteriormente se seleccionó un tumor de forma aleatoria y representativo de las lesiones en general para la colecta de muestras; finalmente se midieron en diámetro con una cinta métrica flexible y se otorgó una clasificación de acuerdo a su tamaño y empleando los criterios de Work y Balazs (1999): Tumores menores de 3 cm de diámetro se clasificaron como leves (grado 1), tumores de 3 a 8 cm de diámetro fueron clasificados como moderados (grado 2) y aquellos mayores de 8 cm de diámetro se consideraron como severos (grado 3) (modificado de Work y Balazs, 1999).

### Toma de muestras

Los tumores seleccionados fueron limpiados con solución de ISODINE® al 7.5%, posteriormente se infiltraron 3 ml de Xilacina al 2% subcutáneamente en 5 puntos alrededor de la base de la neoplasia, transcurrido 1 minuto aproximadamente después de la aplicación, se sujetó la base del tumor con pinzas de hemostasis y se cortó el tejido con una navaja de bisturí.

Se tomaron 30 biopsias representativas de 0.5 cm a 4 cm<sup>3</sup> respectivamente, las cuales se fraccionaron en tres partes similares. Los dos primeros fragmentos se colocaron independientes en tubos tipo Vacutainer® de 10 ml, fijándose por inmersión en formalina amortiguada al 10% (pH 7.4) y se remitieron al departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la UNAM donde fueron procesadas con las técnicas de rutina para Histopatología (Bancroft y Stevens 1982) e inmunohistoquímica (IHQ) con la técnica del complejo avidina biotina peroxidasa (ABC) utilizando un anticuerpo primario y monoclonal (HSV1 antibody [T96] ab8230) de la marca ABCAM®. El tercer fragmento se fijó por inmersión en glutaraldehído al 2.5% (pH 7.2, 0.1M) y fue procesado y analizado con la técnica de rutina para microscopía electrónica de transmisión (MET) (Hunter 1993, Vazquez Nin 2000) en la unidad de MET "Aurora Vázquez Echegaray" de la FMVZ-UNAM.

### Resultados

#### Datos morfológicos

El largo curvo de caparazón (LCC min) promedio del total de las tortugas evaluadas fue de 67.5cm ± 4.95cm, con un intervalo entre 64 a 71 cm.

#### Evaluación macroscópica de FP

De acuerdo a la clasificación macroscópica otorgada (morfología y color), el 66% de las neoplasias tuvieron forma similar a una coliflor, el 20% se clasificaron con aspecto de verrugas y el 13% restantes fueron considerados mixtos. Asimismo, durante la revisión, el 100% de las neoplasias fueron firmes al tacto; el 68% eran de color rosa pálido y el 32% de color gris y blanco. Estos resultados se muestran en la Tabla I y se ilustran en las figuras 1 a 4.

#### Distribución Anatómica de fibropapilomas de las tortugas golfinas

Las zonas anatómicas más afectadas (de mayor a menor) fueron las aletas anteriores derechas y representaron el 40%, seguidas del cuello y hombros (30%), aletas anteriores izquierdas (26.6%) y caparazón (3.33%). Los detalles de la distribución anatómica de los FP en las tortugas golfinas se muestran en la tabla II y se ilustran en las figuras 1 a 4.

**Tabla I.** Clasificación macroscópica de Fibropapilomas de *L. olivacea*

Clasificación macroscópica (morfología y color)	No.	%
Morfología similar a una coliflor	20/30	66.6
Verrugas	6/30	20
Mixtos	4/30	13
Firmes al tacto	30/30	100
Color rosa pálido	20/30	68
Color gris / blanco	10/30	32



**Figura 1.** *Lepidochelys olivacea* en la playa "Escobilla" Oaxaca. Se observa lesión de aspecto nodular de aproximadamente 6 cm de diámetro en el centro de la aleta anterior izquierda.



**Figura 2.** *Lepidochelys olivacea* con múltiples lesiones identificadas como fibropapilomas de aspecto verrugoso en hombros e inicio de las aletas anteriores.



**Figura 3.** Lesiones macroscópicamente identificadas como FP en cuello, hombros e inicio de la aleta anterior derecha en *L. olivacea*, clasificadas como de aspecto de "verrugas" grado 2 (moderada).



**Figura 4.** Múltiples lesiones nodulares identificadas como FP en la parte anterior, central y trasera de la aleta frontal izquierda en *L. olivacea* clasificadas como "mixtas" (Coliflor y verrugas) grado 3 (severo).

**Tabla II.** Distribución anatómica de fibropapilomas en *L. olivacea*

Distribución anatómica de FP	Número	%	Tamaño promedio diámetro (cm)	Desviación estándar	Rango diámetro (cm)
Aletas anteriores derechas	12/30	40	10.05	9.68	3.2 a 16.9
Aletas anteriores izquierdas	8/30	26.6	10.5	6.78	5.7 a 15.3
Cuello y hombros	9/30	30	4.85	4.03	2 a 7.7
Caparazón	1/30	3.33	6.8	9.61	0 a 13.6

### Clasificación de neoplasias de acuerdo a su tamaño

El tamaño promedio de los tumores registrados fue de 9.45 cm de diámetro, con un total de 17 tumores clasificados como moderados, 10 leves y tres severos (Tabla III y figuras 1 a 4).

### Histopatología

Los hallazgos histopatológicos de las neoplasias revelaron condiciones de hiperqueratosis, hiperplasia epidermal, acantosis,

degeneración de células basales y del estrato espinoso, pústulas intraepidermales, así como infiltrado de heterófilos y linfocitos; estas características se describen en la Tabla IV y se ilustran en las figuras 5 a 7.

### Diagnóstico Morfológico

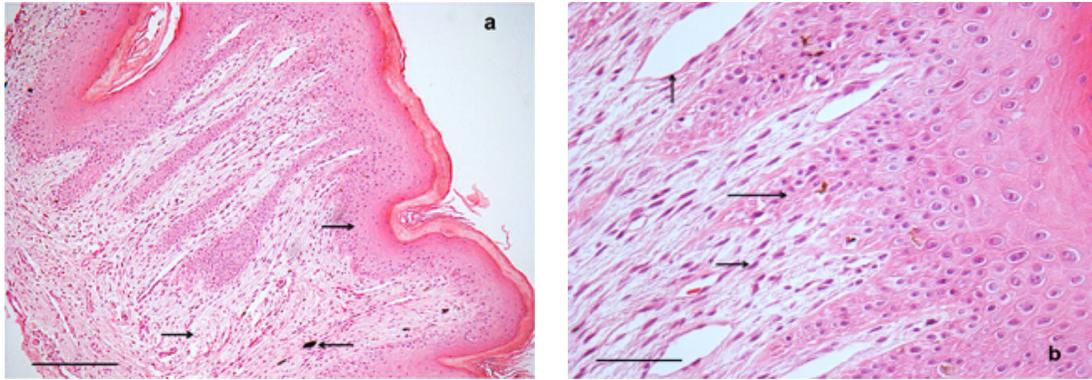
El diagnóstico morfológico fue de (29/30) fibropapilomas cutáneos representando el 97% de los casos y sólo un fibroma con y sin presencia de estructuras parasitarias respectivamente.

**Tabla III.** Clasificación del tumor de acuerdo a su tamaño

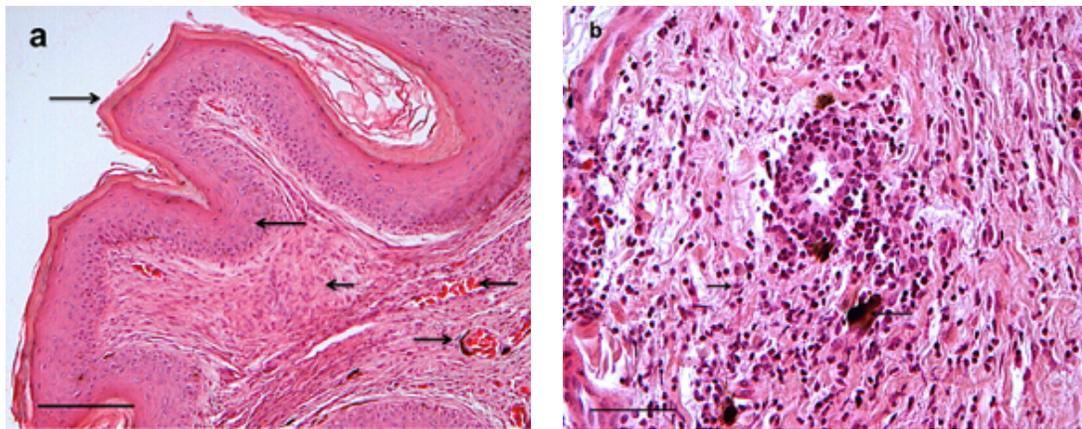
Tamaño del tumor	Clasificación del tumor		
	1 (leve)	2 (moderado)	3 (severo)
< 3 cm	10		
de 3 a 8cm		17	
> 8 cm			3

**Tabla IV.** Hallazgos histopatológicos de 30 neoplasias de *L. olivacea*

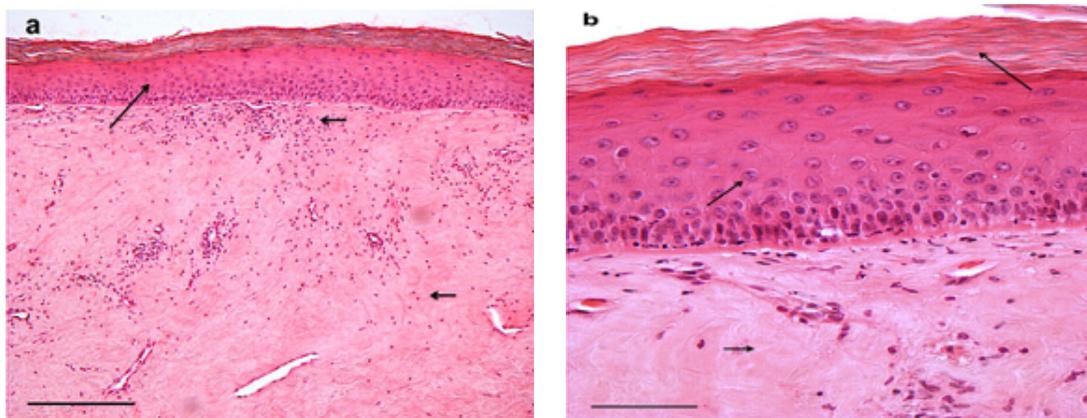
Cambios histopatológicos observados en Epidermis	No. de tortugas (%)
Hiperplasia epidermal de moderada a severa con acantosis leve (multifocal a difusa)	29 (96.6)
Hiperqueratosis ortoqueratósica (leve a moderada difusa)	29 (96.6)
Células basales y del estrato espinoso con cambios leves de tipo degenerativo con distribución multifocal y zonal	25 (83.3)
Células inflamatorias compuestas por heterófilos y linfocitos, así como melanomacrófagos, ambos en pequeña cantidad y con distribución multifocal	24 (80)
Bacterias en forma de cocos y de bacilos (estrato corneo)	13 (43.3)
Estructuras parasitarias semejantes a la de los crustáceos (estrato corneo).	9 (30)
Cambios histopatológicos observados en Dermis	No de tortugas (%)
Acúmulos de colágena irregulares con fibroblastos embebidos en la matriz	28 (93.33)
Fibroblastos con núcleos ovales y pleomórficos con nucleolos prominentes	25 (83.3)
Vasos sanguíneos de neoformación en moderada cantidad	29 (96.6)
Células inflamatorias perivasculares y melanomacrófagos multifocalmente, asociados a aquellos casos con estructuras parasitarias en la epidermis	9 (30)
Predominio del componente mesenquimatoso con las mismas características antes descritas para la dermis, sin presentarse a nivel de epidermis cambios de tipo proliferativo.	1 (3.3)



**Figura 5.** a) Se aprecia hiperplasia epidermal, proliferación de fibroblastos en dermis y algunos melanomacrófagos. H & E. Barra: 100µm. b) Detalle de un FP con de tortuga golfina (*L. olivacea*) con acantosis marcada y formación de clavvas dermales-epidermales, angiogénesis y proliferación de fibroblastos en dermis. H & E. Barra: 100 µm.



**Figura 6.** a) Se aprecia hiperqueratosis, acantosis, formación de papilas, proliferación de fibroblastos embebidos en paquetes de colágena en dermis, melanomacrófagos rodeando vasos sanguíneos y eritrocitos. H & E. Barra: 100 µm. b) Dermis con infiltrado inflamatorio perivascular, compuesto por linfocitos y melanomacrófagos, asociado a ectoparásitos. H & E. Barra: 100 µm.



**Figura 7.** a) Se aprecia hiperplasia epidermal y proliferación de tejido fibroso. Además de leve infiltrado de células inflamatorias mononucleares en dermis. H & E. Barra: 100 µm. b) Detalle del fibroma cutáneo de *L. olivacea* con hiperqueratosis ortoqueratósica, hiperplasia epidermal y fibrosis dérmica. H & E. Barra: 100 µm.

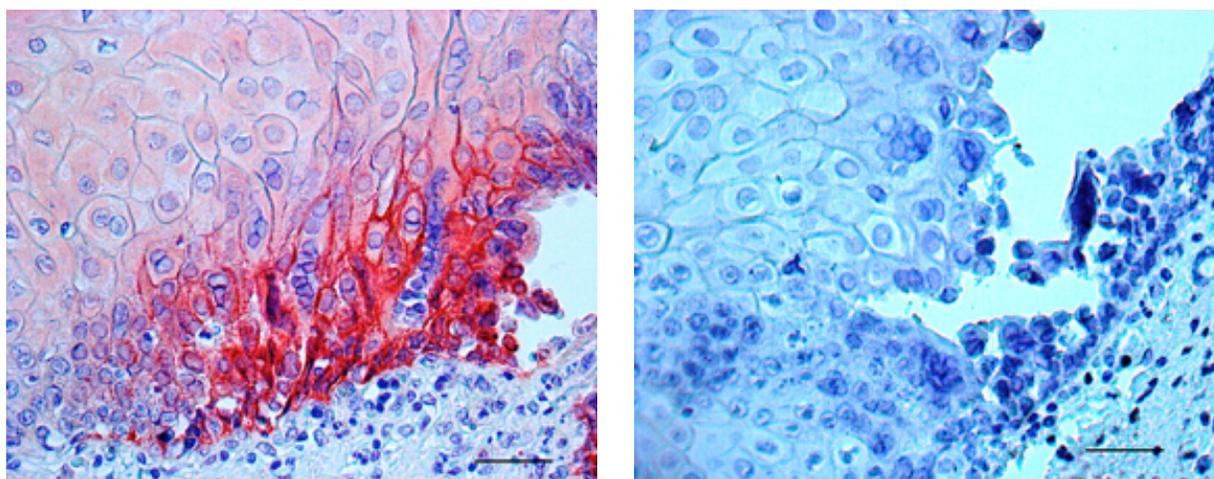
### Imunohistoquímica

En el total de las muestras analizadas, no se encontraron antígenos de herpesvirus y no hubo inmunopositividad tanto a herpesvirus simplex I como II (Figuras 8 y 9).

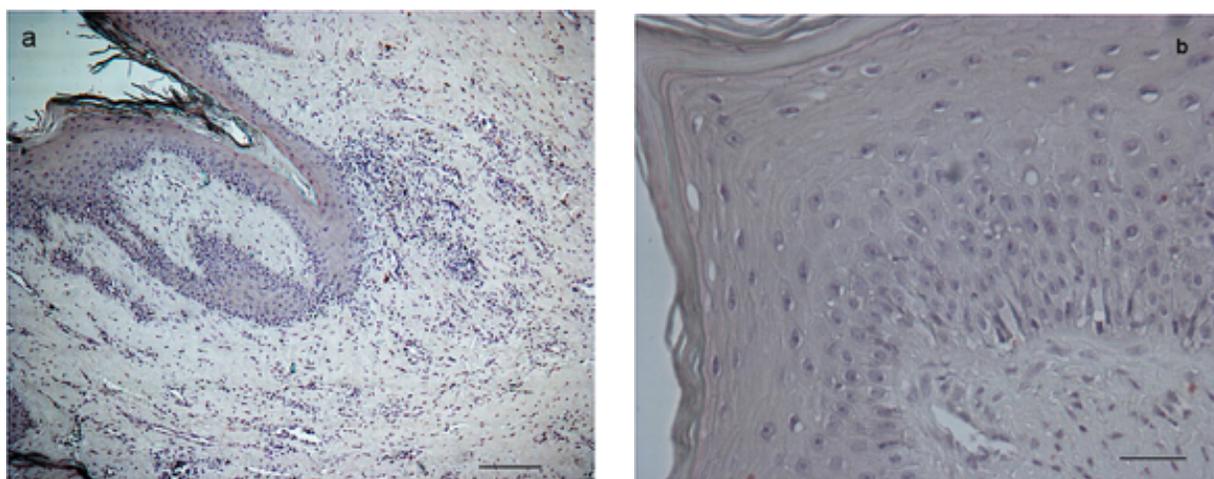
### Ultraestructura

Entre las características observadas en la epidermis, se apreció la separación de las capas

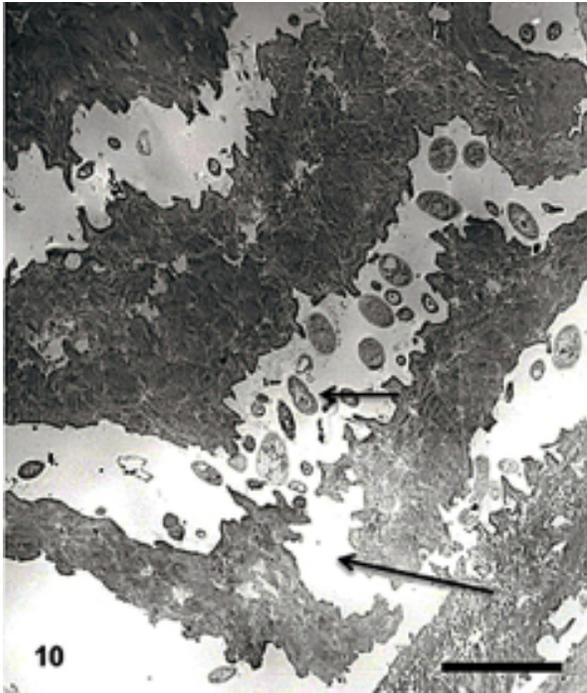
de queratina del estrato córneo, observándose entre los espacios generados la presencia de estructuras de ovals a bacilares con membrana bien definida y contenido granular de moderada densidad, compatibles con la morfología de las bacterias (Figura 10). Las células del estrato córneo presentaban forma plana alargada, anucleadas y con diferente grado de degeneración.



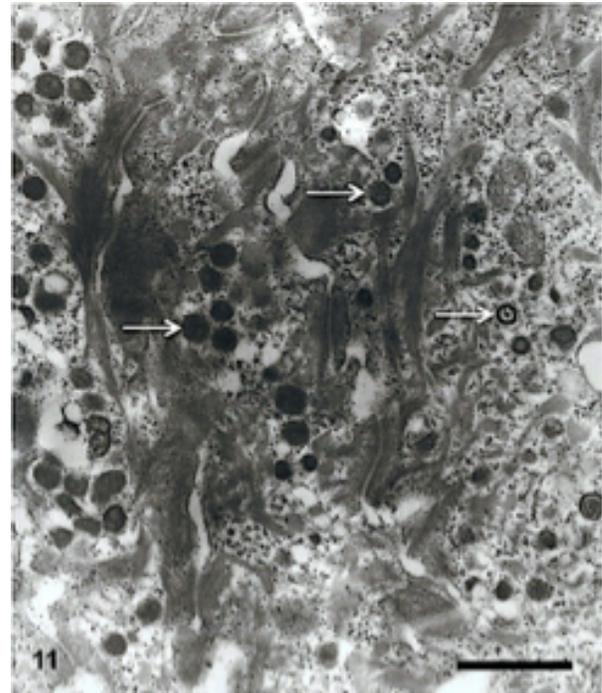
**Figura 8.** Secciones de tejido epitelial, Izquierda: Técnica Inmunohistoquímica (ABC), control positivo a Herpesvirus simplex tipos I y II (HSV1). Derecha: Técnica Inmunohistoquímica (ABC), Control negativo a Herpesvirus simplex tipos I y II (HSV1). Barra: 30  $\mu$ m.



**Figura 9.** a) y b) Secciones de fibropapiloma de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) negativos a antígenos de herpes simplex tipos I y II (HSV1) mediante la Técnica Inmunohistoquímica (ABC). Barra: 30  $\mu$ m



**Figura 10.** Epidermis de un FP, se aprecia desprendimiento de las capas de queratina del estrato córneo y estructuras de ovals a bacilares con membrana bien definida y contenido granular de moderada densidad compatibles con bacterias (Acetato de uranilo-Citrato de plomo. Barra: 30  $\mu$ m).



**Figura 11.** Ultramicrografía de epidermis, se aprecian estructuras icosaédricas electrodensas de 122 a 225 nm de diámetro algunas con envoltura bien delimitada dispuestas en citoplasma sugerentes de partículas virales, similares a las de la familia *Iridoviridae*. (Acetato de uranilo-Citrato de plomo. Barra: 30  $\mu$ m).

Las células de las muestras evaluadas en los estratos espinosos y granuloso, se encontraban discretamente separadas por espacios electrolúcidos, eran de ovals a poliédricas y presentaron abundantes complejos de unión que incluían desmosomas y hemidesmosomas de diferentes tamaños distribuidos aleatoriamente y de forma irregular. Los queratinocitos presentaban de escaso a moderado citoplasma con abundantes filamentos de queratina solos o en paquetes, escasos organelos (mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, entre otros), gránulos de glicógeno y formaciones vacuolares. En estos mismos estratos, en quince de dieciocho de las muestras procesadas (83.3%) se observaron en el citoplasma de los queratinocitos estructuras redondas, semipoliédricas y poliédricas de 122 a 225 nm de diámetro; la mayoría electrodensas y en algunas se observó la presencia de una envoltura electrodensa, sugerentes de partículas virales con características y tamaño

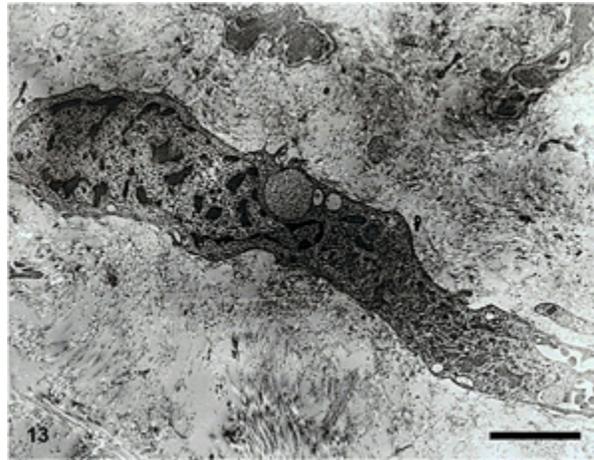
similar a los virus de la familia *Iridoviridae* (Figura 11).

Los núcleos de las células eran de redondos a ovals con y sin escotaduras en la membrana nuclear, de diferentes tamaños con acúmulos heterocromatina de discretos a escasos adheridos a la periferia, ocupando la eucromatina la mayor parte del contenido nuclear, encontrándose de uno a dos nucleolos prominentes y en otras células nucleolo de aspecto reticular.

Algunas células presentaron en el núcleo zonas con aspecto granular fino, de moderada electrodensidad con siluetas electrolúcidas de forma pseudopoliédrica de 175 nm aproximadamente, siendo sugerente de matriz de replicación viral (Figura 12).

Por otra parte, las células del estrato basal estaban separadas por amplios espacios intercelulares electrolúcidos con presencia de puentes intercelulares (proyecciones del citoplasma) y demosomas de diferentes tamaños.

Las células eran pleomórficas con múltiples invaginaciones de la membrana celular de leves a moderadas, la cantidad de citoplasma era de escaso a moderado con múltiples acúmulos de filamentos de queratina y pocos organelos; dando un aspecto de mayor densidad con respecto a los queratinocitos de los demás estratos. Los núcleos presentaban forma pleomórfica con algunas invaginaciones de la membrana, con acúmulos discretos de heterocromatina plegada a la periferia y con uno a dos nucléolos prominentes. Las secciones de componente mesenquimatoso estaban constituidas por células fusiformes alargadas a poliédricas con proyecciones citoplasmáticas cortas, escaso citoplasma con moderada cantidad de organelos, el núcleo era alargado, observándose también en algunas células núcleos indentados marcadamente. Dichas células se encontraban embebidas en abundantes paquetes de colágena dispuestos en diferentes direcciones y de forma irregular. En estas secciones no se apreciaron partículas virales en las células neoplásicas mesenquimatosas (Figura 13).



**Figura 13.** Ultramicrografía de la dermis en donde se aprecia un fibroblasto con características neoplásicas intercalado en paquetes de abundante colágena. (Acetato de uranilo-Citrato de plomo. Barra: 30  $\mu$ m).

### Discusión

Autores como Herbst y Klein (1995) Lu y colaboradores (2000) y Balazs y Chaloupka (2004b) entre otros, coinciden al proponer que la FP es una enfermedad de gran impacto en las poblaciones de las diferentes especies de tortugas marinas y que el desarrollo de los FP cutáneos y los cambios histopatológicos y ultraestructurales que se observan al evaluarlos, están asociados a múltiples factores predisponentes y a la interacción de factores ambientales tales como el aumento en la temperatura del agua, la contaminación del agua, la presencia en el hábitat e ingesta de algas tóxicas (Arthur *et al.* 2008) vectores mecánicos (Greenblatt *et al.* 2004) y la presencia del herpesvirus Chelonid tipo 5 (ChHV5) (Ene *et al.* 2005), que son causales de la inmunosupresión en los individuos (Flint *et al.* 2010).

Actualmente la etiología, epidemiología y patogenia de FP en tortugas marinas no es del todo clara, no obstante, reportes previos indican que se asocia a un herpesvirus (Jacobson *et al.* 1992, Lu *et al.* 2000) identificado como "Herpesvirus Chelonid tipo 5" (ChHV5) (Ene *et al.* 2005, Work *et al.* 2014). Los signos clínicos de la enfermedad (tumores fibroepiteliales con prevalencia en ojos y base de las aletas) han sido registrados en todas las especies



**Figura 12.** Queratinocito neoplásico con escaso citoplasma y presencia de abundantes filamentos y estructuras electrodenudas semi redondas dispuestas alrededor del núcleo en el citoplasma, el núcleo se encuentra indentado con nucleolo prominente (Acetato de uranilo-Citrato de plomo. Barra: 30  $\mu$ m).

de tortugas marinas en sus etapas juveniles, subadultos y adultos (Aguirre *et al.* 1994, Aguirre *et al.* 1995, Balazs *et al.* 1997, Aguirre y Balazs 2000) y con incidencia en hembras y machos (Work *et al.* 2003). Esto se puede atribuir a las diferencias en la ecología de los organismos, los patrones de comportamiento y la sociabilidad de las especies durante su ciclo de vida (Aguirre y Lutz 2004, Arthur *et al.* 2008). Diversos autores sugieren que los individuos son más propensos a ser infectados en las zonas de anidación, alimentación y desarrollo en los hábitats neríticos (Herbst 1994, Work *et al.* 2003, Ene *et al.* 2005, Arthur *et al.* 2008, Flint *et al.* 2010) puesto que, en zonas con densidades más altas, se favorece el contacto directo entre organismos enfermos, portadores e individuos susceptibles (Work *et al.* 2014). Asimismo, en algunas zonas geográficas se propone que FP está relacionada con la presencia de sanguijuelas (*Ozobranchus margoii*) y otros ectoparásitos los cuales son considerados como posibles vectores, esto con base en el alto contenido de secuencias de herpesvirus que se han detectado en su ADN mediante estudios de Biología molecular (Greenblatt *et al.* 2004).

En México, los reportes de FP en tortugas marinas incluyen a la tortuga golfina (*L. olivacea*) en Colima (Gámez *et al.* 2009) y Oaxaca (Reséndiz 2007), asimismo en Baja California Sur existen descripciones de FP en *C. mydas* asociados a partículas virales (Reséndiz *et al.* 2016) y reportes de FP en *L. olivacea* y *C. caretta* en el Golfo de Ulloa con y sin manifestación clínica respectivamente (Cordero-Tapia y Reséndiz 2014).

### **Clasificación Macroscópica**

La playa Escobilla Oaxaca es uno de los sitios de anidación masiva (arribada) más importantes del mundo, la morfología externa, distribución anatómica de los tumores y el tamaño registrados en este estudio fue consistente con las descripciones previas de FP en otros lugares de anidación como Costa Rica y Hawái (Aguirre *et al.* 1998, Aguirre *et al.* 1999). En ese contexto no se observaron cambios en el tamaño ni en la morfología (Work

*et al.* 1999, Herbst *et al.* 1995, Herbs *et al.* 1999) lo cual limita la posibilidad de conocer la etapa de desarrollo de las neoplasias (Work y Balazs 1999, Aguirre *et al.* 2002) o bien si estaban en fase de regresión (Bennett *et al.* 2000, Guimarães *et al.* 2013).

### **Histopatología**

Los análisis histopatológicos de las lesiones epiteliales revelaron características de tipo proliferativo y son similares a FP comúnmente asociada a partículas virales (Herbst *et al.* 1994, Aguirre *et al.* 1998, Herbst *et al.* 1999).

### **Inmunohistoquímica**

La prueba de inmunohistoquímica es una técnica determinante para la identificación de antígenos de agentes virales tales como adenovirus, poxvirus y papilomavirus (Damian *et al.* 2005), así como del herpesvirus que afecta a las tortugas marinas (Coberley *et al.* 2001). Al presentarse inmunopositividad a antígenos de FP en el plasma de tortugas marinas, se sugiere que existe una respuesta a proteínas particulares de los herpesvirus (gB y gG) aunque también pueden existir otros virus involucrados en la reacción positiva con antígenos de herpesvirus (Matushima *et al.* 2001, Coberley *et al.* 2002). Sin embargo, en nuestro estudio, mediante inmunohistoquímica del complejo avidina biotina peroxidasa (ABC) no se observó inmunopositividad para antígenos específicos de herpesvirus simplex tipo 1 y tipo 2 (HSV1). Cabe señalar que aún cuando en FP se producen efectos y daños celulares característicos de los herpesvirus, todavía no se ha logrado aislar, e inocular para obtener replicación y determinar su verdadera participación en el desarrollo de FP en tortugas marinas (Herbst *et al.* 1994, Work *et al.* 2014).

### **Ultraestructura**

Los análisis ultraestructurales de las lesiones indican que los cambios observados son similares a los descritos previamente, mismos que han sido asociados a infecciones por herpesvirus (Matushima *et al.* 2001). No obstante, en este estudio mediante histopatología y

microscopía electrónica de transmisión, no se pudo encontrar evidencia contundente de que el agente causal de los tumores identificados como FP sea un herpesvirus. En este sentido, la microscopía electrónica mostró cambios en las células de la epidermis como pleomorfismo, aumento de tamaño, vacuolización con partículas virales bien definidas con envoltura y virión en núcleo y citoplasma de las células; en dermis, fibroblastos pleomórficos con características neoplásicas y abundante colágena. (Aguirre *et al.* 1994, Oros *et al.* 1999, Herbst *et al.* 1999, Aguirre *et al.* 1994, Jelinek y Tachezy 2005). En el caso de la morfología en los queratinocitos de los estratos basal, espinoso y granuloso en la epidermis, así como de los fibroblastos en dermis, son indicativos de células neoplásicas de tipo benigno. Por lo tanto, los cambios morfológicos sugerentes de malignidad fueron descartados (Meuten 2002).

La presencia de abundantes complejos de unión (desmosomas y hemodesmosomas) y acúmulos irregulares intracitoplasmáticos de filamentos de queratina en células epidermales, son alteraciones particulares de los tumores de origen epidermal y la abundante producción de colágena en paquetes irregulares, proliferación de retículo endoplásmico y pleomorfismo nuclear son alteraciones presentes en las neoplasias de tejido conjuntivo (Erlandson 1994, Eyden 1996, Aguirre y Balazs 2000, Meuten 2002).

En la evaluación de las células epiteliales no se apreciaron zonas de replicación viral de herpesvirus, las cuales generalmente se manifiestan por acúmulo intranuclear de viriones maduros e inmaduros con la fragmentación y disgregación nuclear y la presencia en el citoplasma de partículas maduras con las envolturas que caracterizan a este grupo de virus (Cheville 1994, Aguirre y Balazs 2000). Tampoco se apreciaron partículas virales de otros agentes descritos en la literatura asociados a fibropapilomas en tortugas marinas como retrovirus, papilomavirus o virus desnudos (Aguirre *et al.* 1999 Coberley, 2002, Lu *et al.* 2000).

En este estudio los queratinocitos de los

estratos espinoso y granuloso presentaron en el citoplasma estructuras redondas, semipoliédricas y poliédricas electrodensas de 122 a 210 nm de diámetro, que con la aplicación de criterios para identificación de partículas virales (Cheville 1994, Cedillo *et al.* 2006) incluyendo su localización en el citoplasma, morfología y tamaño; aunado a la presencia en algunas de ellas de una pseudoenvoltura o membrana electrodensa, sugieren ser partículas virales pertenecientes a la familia *Iridoviridae*.

### *Familia Iridoviridae*

Los virus de la familia *Iridoviridae* comprenden un grande y complejo grupo de microorganismos asociados con enfermedades en peces de agua dulce, marinos y anfibios (Qin *et al.* 2006). Los iridovirus son agentes de distribución mundial, causantes de enfermedades infecciosas y proliferativas en diferentes especies de reptiles, anfibios y peces (Mao 1999, Wen *et al.* 2004). Reportándose desde hace más de una década informes con respecto a la presentación de este agente con mayor frecuencia.

También existen descripciones de nuevas variantes y su adaptación a otras especies como lo indican aislamientos de iridovirus en tortugas de concha blanda (*Trionyx sinensis*) (Chen 1999) así como la clasificación mediante MET y biología molecular de un iridovirus en una colección de quelonios como perteneciente al género de los Ranavirus (Hyatt *et al.* 2002). En peces, algunos iridovirus desencadenan enfermedades de tipo proliferativo como en el caso de la linfoquistosis, generando nodulaciones tumorales a nivel de la piel (Noga 1996). En 2005 Chi-Tung y colaboradores lograron identificar la secuencia completa del genoma de los iridovirus, compararon su organización genómica y su participación en el desarrollo de enfermedades en reptiles. También existen diversos informes en los cuales se han realizado análisis moleculares para clonar el ADN y encontrar la presencia de virus y determinar su participación en enfermedades en anfibios y reptiles (Paul *et al.* 2007). Autores como San-Tai y colaboradores en (2005) relacionan al iridovirus con enfermedades de tipo infecciosas, causantes de lesiones necróticas, ulcerativas

y hemorrágicas en tortugas de concha blanda (*Pelodiscus sinensis*).

En el caso de tortugas marinas la participación de agentes etiológicos como iridovirus en FP ha sido abordado con poca frecuencia y la información generada al respecto es limitada. No obstante, es bien aceptado que la FP de tortugas marinas está asociada con el Herpesvirus Chelonid tipo 5 (ChHV5) y diversos autores proponen que para confirmar su presencia, se debe incluir una demostración de ADN (Work *et al.* 2014). En ese sentido, los herpesvirus son numerados de acuerdo con el punto y tiempo de su detección y particularmente el número 5 en ChHV5 indica que pueden estar presentes varios tipos de herpesvirus Chelonid (Ene *et al.* 2005). En este estudio, la documentación de las estructuras virales por MET no indica que las lesiones encontradas se asocian con ChHV5.

Cabe señalar que la presencia de ectoparásitos “balanos” y bacterias en la superficie de las neoplasias de tortugas marinas es cada vez más frecuente (Greenblatt *et al.* 2004, Gámez *et al.* 2006). En este estudio se encontraron bacterias en la superficie de los FP, pero debido a que no se encontró relación en la diseminación de partículas virales (Leibovitz y Koulis 1989, Quakenbush *et al.* 2001) su participación en el desarrollo de las neoplasias mediante histopatología, inmunohistoquímica y ultraestructura se consideraron como hallazgos incidentales.

## Conclusión

FP con presencia de partículas virales, es una enfermedad de presentación relativamente frecuente en poblaciones de tortugas golfinas.

A pesar de que se observaron partículas virales similares a iridovirus en FPs de tortuga golfinas, no se pudo determinar su participación en el desarrollo de la fibropapilomatosis.

La naturaleza y morbilidad de la enfermedad y sus efectos, requieren una estrecha vigilancia a lo largo de la costa Pacífico de México. Los monitoreos de tortugas marinas en las áreas de anidación deben intensificarse para generar información confiable que puedan ayudar a entender la etiología, la progresión y

regresión de la enfermedad en relación con la historia de vida de las tortugas. Debe incluir también la interpretación de la relación de los factores ambientales y los antropogénicos que posiblemente permiten la difusión de la enfermedad.

Es necesario que en las regiones de alto valor de conservación como ésta, se fortalezcan las líneas de investigación y se incluyan pruebas de ADN de tumores para determinar la participación de agentes virales, como el virus del herpes Chelonid 5 (ChHV5) en la manifestación de estas neoplasias, así como evaluar la prevalencia de la FP y otras enfermedades.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Rafael Riosmena-Rodríguez, a Jorge Manuel López Calderón adscritos al Programa de Investigación en Botánica marina de la Universidad Autónoma de Baja California Sur por la revisión y su apoyo durante la realización de este manuscrito. Al Centro Mexicano de la Tortuga y al campamento Tortuguero de “La Escobilla” Oaxaca por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo y a Ana Lucía Salazar-González y a Stephanie Rousso por sus servicios editoriales.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflicto de interés.

## Referencias

- Aguirre, A., G. Balazs, T. Spraker, & T. Gross. 1995. Adrenal and Hematological Responses to Stress in Juvenile Green Turtles (*Chelonia mydas*) with and without Fibropapillomas. *Physiological Zoology* 68(5), pp.831-854.
- Aguirre, A., G. Balazs, T. Spraker, S. Murakawa & B. Zimmerman. 2002. Pathology of Oropharyngeal Fibropapillomatosis in Green Turtles *Chelonia mydas*. *Journal of Aquatic Animal Health* 14(4), pp.298-304.
- Aguirre, A., G. Balazs, B. Zimmerman, & T. Spraker. 1994. Evaluation of Hawaiian Green Turtles (*Clenonia mydas*) for potential pathogens associated with fibropapillomas. *Journal of Wildlife Diseases* 30(1), pp.8-15.

- Aguirre, A. & G. Balazs. 2000. Blood Biochemistry Values of Green Turtles, *Chelonia mydas*, with and Without Fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International* 10(3), pp.132-137.
- Aguirre A. & P. Lutz. 2004. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? *EcoHealth* 1(3).
- Aguirre, A., T. Spraker, G. Balazs & B. Zimmerman. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in Green Turtles from the Hawaiian Islands. *Journal of Wildlife Diseases* 34(1), pp.91-98.
- Aguirre, A., T. Spraker, A. Chaves, L. Toit, W. Eure & G. Balazs. 1999. Pathology of Fibropapillomatosis in Olive Ridley Turtles *Lepidochelys olivacea* Nesting in Costa Rica. *Journal of Aquatic Animal Health* 11(3), pp.283-289.
- Arthur, K., C. Limpus, G. Balazs, A. Capper, J. Udy, G. Shaw, U. Keuper-Bennett & P. Bennett. 2008. The exposure of green turtles (*Chelonia mydas*) to tumor promoting compounds produced by the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* and their potential role in the etiology of fibropapillomatosis. *Harmful Algae* 7(1), pp.114-125.
- Balazs, G., A. Aguirre, & S. Murakawa. 1997. Occurrence of oral Fibropapillomas in the Hawaiian green turtle: Differential disease Expression. *Marine Turtle Newsletter* 76:1-4.
- Balazs, G., & M. Chaloupka. 2004b. Spatial and temporal variability in somatic growth of green sea turtles (*Chelonia mydas*) resident in the Hawaiian Archipelago. *Marine Biology* 145(5), pp.1043-1059.
- Balazs, G., & M. Chaloupka. 2004a. Thirty-year recovery trend in the once depleted Hawaiian green sea turtle stock. *Biological Conservation* 117(5), pp.491-498.
- Balazs, G. & E. Jacobson. 1990. Health advisory for Fibropapilloma disease. *Marine Turtle Newsletter* 49:27.
- Bancroft, J. & A. Stevens 1982. *Theory and practise of Histological techniques*. Second edition, Churchill Livingstone.
- Bennett, P., U. Keuper-Bennett, & G. Balazs. 2000. Photographic evidence for the regression of fibropapillomas afflicting green turtles at Honokowai, Maui, in the Hawaiian Islands. In H. Kalb and T. Wibbels (Comps.), *Proceedings Of The Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology*, March 2-6, 1999, South Padre Island, Texas, p 37-39. U.S. Dept. Commerce. NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFSC-443.
- Bolten A. 1999. Techniques for measuring sea turtles. In Eckert, K, Bjorndal K, Abreu-Grobois A, y Donnelly M, Eds. *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Brooks, D., P. Ginn, T. Miller, L. Bramson, & E. Jacobson. 1994. Ocular Fibropapillomas of Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Pathology* 31(3), pp.335-339.
- Cedillo, C., C.G. Salas & F. Constantino. 2006. Diagnostico ultraestructural de agentes virales. Estudio recapitulativo de 1996 a 2005. *Memorias Del XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria; Zacatecas, México*. Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios pp.164-171.
- Chaloupka, M., G. Balazs, & T. Work. 2009. Rise and Fall over 26 Years of a Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles. *Journal of Wildlife Diseases* 45(4), pp.1138-1142.
- Chen, Z. C. Zheng & Y.A. Jiang. 1999. New iridovirus isolated from soft-shelled turtle. *Virus Research* 63: 147-151.
- Chevillat N. 1994. *Ultrastructural Pathology an Introduction to Interpretation*. Iowa State University Press/Ames.
- Chi-Tung, T., T. Jing-Wen, W. Ming-Hsien, W. Ming-Feng, G. Ing-Cherng & C. Chi-Yao. 2005. Complete genome sequence of the grouper iridovirus and comparison of genomic organization with those of other Iridoviruses. *Journal of virology* 79 (4): 2010-2023.
- Coberley, S., R. Condit, L. Herbst & P. Klein. 2002. Identification and Expression of Immunogenic Proteins of a Disease-Associated Marine Turtle Herpesvirus. *Journal of virology* 76 (20): 10553-10558.
- Coberley, S., L. Herbst, D. Brown, M. Llewellyn, T. Ehrhart, A. Bagley, A. Schaf, R. Moretti, E. Jacobson & P. Klein. 2001. Detection of Antibodies to a Disease-Associated Herpesvirus of the Green Turtle, *Chelonia mydas*. *Journal of Clinical Microbiology* 39 (10): 3572-3577.
- Cordero-Tapia Amaury, Reséndiz Morales Eduardo. 2014. Reporte Médico y Forense de la Tortuga Amarilla (*Caretta caretta*) en Bahía de Ulloa B.C.S. México. Incluido en el Informe Final de Investigación del Estudio Sobre las Causas de muerte de la Tortuga Amarilla (*Caretta caretta*) en la Costa Occidental de Baja California Sur (Golfo de Ulloa). UABCS, CIBNOR, CICIMAR, y CONANP. Pp. 115, 122 a 195. Disponible en: [http://entorno.conanp.gob.mx/documentos/INFORME\\_FINAL\\_PROYECTO\\_MORT\\_T\\_AMARILLA\\_GOLFO\\_ULLOA1\\_CONANP\\_UABCS\\_CIBNOR\\_CICIMAR-JUNIO\\_2014.pdf](http://entorno.conanp.gob.mx/documentos/INFORME_FINAL_PROYECTO_MORT_T_AMARILLA_GOLFO_ULLOA1_CONANP_UABCS_CIBNOR_CICIMAR-JUNIO_2014.pdf)
- Damian, M., E. Morales, C.G. Salas & F. Trigo. 2005. Immunohistochemical Detection of Antigens of Distemper Adenovirus and Parainfluenza Viruses in Domestic Dogs with Pneumonia. *Journal of Comparative Pathology* 133: 289-293.
- Dethmers, K., D. Broderick, C. Moritz, N. Fitzsimmons, C. Limpus, S. Lavery, S. Withiting, M. Guinea, R. Prince & R. Kennett. 2006. The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*):

- exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology* 15(13), pp.3931-3946.
- Dutton, P., G. Balazs, R. LeRoux, S. Murakawa, P. Zarate, L. Martines. 2008. Composition of Hawaiian green turtle foraging aggregations: mtDNA evidence for a distinct regional population. *Endangered Species Research* 5, pp.37-44.
- Ene, A., M. Su, S. Lemaire, C. Rose, S. Schaff, R. Moretti, J. Lenz & L. Herbst. 2005. Distribution of Chelonid Fibropapillomatosis-associated herpesvirus variants in Florida: Molecular Genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. *Journal of Wildlife Diseases* 41(3), pp.489-497.
- Erlanson R. 1994. Diagnostic Transmission Electron Microscopy of Tumors with Clinicopathological, Immunohistochemical, and *Cytogenetic Correlations*. Raven Press New York, 1994.
- Eyden, B., & I. Shoin. 1996 *Organelles in Tumor Diagnosis an Ultrastructural Atlas*. Igaku-Shoin New York-Tokyo.
- Flint, M., J. Morton, C. Limpus, J. Patterson-Kane & P. Mills. 2010. Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) from Moreton Bay, Australia. *Journal of Wildlife Diseases* 46(3), pp.731-741.
- Gámez, S. J. García, D. Osorio, L. Vázquez & F. Constantino. 2009. Patología de las tortugas Marinas (*Lepidochelys olivacea*) que arribaron a las playas de Cuyutlán, Colima, México. *Veterinaria México* 40(1): 69-78.
- Gámez, S., D. Osorio, C. Peñaflores & J. Ramírez. 2006. Identificación de parásitos y epibiontes de la Tortuga golfinia (*Lepidochelys olivacea*) que arribó a las playas de Michoacán y Oaxaca, México. *Veterinaria México* 37 (4): 431-440.
- Greenblatt, R., T. Work, G. Balazs, C. Sutton, R. Casey & J. Casey. 2004. The *Ozobranchus* leech is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). *Virology* 321(1), pp.101-110.
- Greenblatt, R., T. Work, P. Dutton, C. Sutton, T. Spraker, R. Casey, C. Diez, D. Parker, J. St. Leger, G. Balazs & J. Casey. 2005. Geographic variation in marine turtle Fibropapillomatosis. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 36(3), pp.527-530.
- Guimarães, S., H. Gitirana, A. Wanderley, C. Monteiro-Neto & G. Lobo-Hajdu. 2013. Evidence of regression of fibropapillomas in juvenile green turtles *Chelonia mydas* caught in Niterói, southeast Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms* Vol. 102: 243-247.
- Herbst, L., E. Jacobson, P. Klein, G. Balazs, R. Moretti, T. Brown & J.P. Sundberg. 1999. Comparative pathology and pathogenesis of spontaneous and experimentally induced fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Pathology* 36(6), pp. 551-564.
- Herbst, L., E. Jacobson, R. Moretti, T. Brown, J. Sundberg & P. Klein. 1995. Experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis using cell-free tumor extracts. *Diseases of Aquatic Organisms* 22, pp.1-12.
- Herbst, L. & P. Klein. 1995. Green Turtle Fibropapillomatosis: Challenges to Assessing the Role of Environmental Cofactors. *Environmental Health Perspectives* 103, p.27.
- Herbst L. 1994. Fibropapillomatosis of marine turtles. *Annual Review of Fish Diseases* 4, pp.389-425.
- Hunter E. 1993. *Practical Electron Microscopy. A Beginner's Illustrated Guide*. Second edition. Cambridge University Press.
- Hyatt, A., M. Williamson, B. Coupar, D. Middleton, S. Hengstberger, A. Gould, P. Sellec, T. Wise, J. Kattenbelt, A. Cunningham & J. Lee. 2002. First identification of a ranavirus from green phytons (*Chondropython Viridis*). *Journal of Wild Life Diseases* 38 (2): 239-252.
- Jacobson, E., C. Buergelt, B. Williams & R. Harris. 1992. Herpesvirus in cutaneous fibropapillomas of the green turtle *Chelonia mydas*. *Diseases of Aquatic Organisms* 12, pp.1-6.
- Jacobson, E., J. Mansell, J. Sundberg, L. Hajjar, M. Reichmann, L. Ehrhart, M. Walsh & F. Murru. 1989. Cutaneous fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). *Journal of Comparative Pathology* 101(1), pp.39-52.
- Jelínek, F., R. Tachezy. 2005. Cutaneous Papillomatosis in Cattle. *Journal of Comparative Pathology* 132(1), pp.70-81.
- Leibovitz, L. & S. Koulisch. 1989. A viral disease of the Ivory Barnacle, *Balanus eburneus*, Gould (*Crustacea Cirripeda*). *Biological Bulletin* 176: 301-307.
- Lu, Y., Y. Wang, Q. Yu, A. Aguirre, G. Balazs, V. Nerurkar & R. Yanagihara. 2000. Detection of herpesviral sequences in tissues of green turtles with fibropapilloma by polymerase chain reaction. *Arch Virol* 145(9), pp.1885-1893.
- Mao, J., D. Green, G. Fellers & V. Chinchar. 1999. Molecular Characterization of Iridoviruses Isolated from Sympatric Amphibians and Fish. *Virus Research* 63: 45-52.
- Matushima, E., A. Longatto Filho, C. Di Loretto, C. Kanamura, I. Sinhorini, B. Gallo & C. Baptistolle. 2001. Cutaneous papillomas of green turtles: a morphological, ultra-structural and immunohistochemical study in Brazilian specimens. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 38(2), pp.51-54.
- McGavin, D. & J. Zachary. 2007. *Pathologic Basis of*

- Veterinary Disease. 4th Edition. Elsevier, St. Louis
- Meuten D.J. 2002. Tumors in domestic animals. 4ed. Ames: Iowa State.
- Noga J.E. 1996. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Blackwell Publishing mosby-year book Inc.
- Oros, J., J. Lackovich, E. Jacobson, D. Brown, A. Torrent, S. Tucker & P. Klein. 1999. Fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales en una Tortuga verde (*Chelonia mydas*) Rev. Esp. Her. 13:17-26.
- Paul, E., N. Chitnis, C. Henderson, R. Kaul, S. Costa & S. Billimoria. 2007. Induction of apoptosis by iridovirus virion protein extract. Arch. Virology 152: 1353- 1364.
- Qin, Q., T. Wu, T. Jia, A. Hedge & R. Zhang. 2006. Development and characterization of a new tropical marine fish cell line from grouper, *Epinephelus coioides* susceptible to iridovirus and nodavirus. Journal of Virological Methods 131: 58-64.
- Quackenbush, S., R. Casey, R. Murcek, T. Paul, T. Work, C. Limpus, A. Chaves, L. duToit, J. Perez, A. Aguirre, T. Spraker, J. Horrocks, L. Vermeer, G. Balazs & J. Casey. 2001. Quantitative Analysis of Herpesvirus Sequences from Normal Tissue and Fibropapillomas of Marine turtles with real time PCR. Virology 287. pp. 105-111.
- Eduardo Reséndiz, Sergio Flores-Ramírez, Volker Koch & Amaury Cordero-Tapia (2016) First Record of Fibropapillomatosis in a Green Turtle *Chelonia mydas* from the Baja California Peninsula, Journal of Aquatic Animal Health, 28:4, 252-257, DOI: 10.1080/08997659.2016.1223207
- Reséndiz E. 2007. Fibropapilomatosis en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) de La Playa "Escobilla" Oaxaca, México. Tesis de Maestría. Ciudad de México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.
- San-Tai, S., L. Li-Ming, C. Jia-Ru, C. Jung-Tsun & Y.U. Yuh-Lin. 2005. Molecular cloning and sequence analysis of a cDNA encoding pituitary thyroid stimulating hormone subunit of the Chinese soft-shell turtle *Pelodiscus sinensis* and regulation of its gene expression. General and Comparative Endocrinology 131: 192-201.
- Smith, G.M. & C.W. Coates. 1938. Fibro-epithelial growths of the marine turtles *Chelonia mydas* (L.). Zoologica NY 23:93-98.
- Vazquez Nin G. 2000. Introducción a la Microscopia Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas. Ed. Fondo de Cultura Económica, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Wen, J., W. Qim, Q. Jin, H. Can, W. Fan, L. Choy. 2004. Functional Genomics analysis of Singapore grouper iridovirus complete sequence determination and proteomic analysis. Journal of virology 78, (22): 12576-12590.
- Work, T., G. Balazs, M. Wolcott & R. Morris. 2003. Bacteraemia in free-ranging Hawaiian green turtles *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis. Diseases of Aquatic Organisms 53, pp.41-46.
- Work, T. & G. Balazs. 1999. Relating Tumor Score to Hematology in Green Turtles with Fibropapillomatosis in Hawaii. Journal of Wildlife Diseases 35(4), pp.804-807.
- Work, T., J. Dagenais, G. Balazs, N. Schettle & M. Ackermann. 2014. Dynamics of Virus Shedding and In Situ Confirmation of Chelonid Herpesvirus 5 in Hawaiian Green Turtles With Fibropapillomatosis. Veterinary Pathology 52(6), pp.1195-1201. <http://dx.doi.org/10.1177/0300985814560236>.

**Recibido:** 28 de abril de 2016

**Aceptado:** 28 de febrero de 2017