



Fibropapilomatosis en tortuga verde marina (*Chelonia mydas*), una enfermedad infecciosa y ecosistémica

Paula Carolina Sierra Chacón

Directora: Dra. Wendie Oriana Roldán Villalobos

Fundación Universitaria Agraria de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Programa de Medicina Veterinaria
Diplomado de Dermatología Veterinaria
Bogotá D.C.
2023

Tabla de contenido

Lista de figuras.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	5
General.....	5
Específicos	5
Resumen	6
Abstract	7
Marco de Referencia	8
Coevolución virus-huésped.....	8
Epidemiología	9
Sistemas Humanos y Naturales	11
Métodos y técnicas de trabajo.....	12
Revisión sistemática y analítica.....	13
Agente Etiológico	14
Predisposición	15
Fisiopatología.....	19
Descripción macroscópica	21
Descripción microscópica.....	21
Diagnóstico	24
Tratamiento	26
Conclusiones y recomendaciones	28
Bibliografía.....	30

Lista de figuras

Figura 1.....	12
Figura 2.....	15
Figura 3.....	23
Figura 4.....	24

Introducción

Las tortugas verdes marinas (*Chelonia mydas*) son consideradas como especies “sombrija” ya que, son indicadores de la salud ecosistémica marina debido a su actividad de pastoreo sobre los pastos marinos, evitando su sobrecrecimiento y reduciendo la entrada de nutrientes en exceso a estas áreas (Perrault *et al*, 2021). Se han podido identificar once poblaciones de tortugas marinas a lo largo del mundo, cada una con importancia biológica y ecológica para su entorno (Jones *et al*, 2015).

La existencia y el bienestar de las tortugas verdes marinas constantemente se ve afectado por factores como la caza, saqueo de nidadas, contaminación medioambiental, pérdida de hábitat, desequilibrio ecosistémico por introducción de especies foráneas invasoras, cambio climático y enfermedades infecciosas (Okoh *et al*, 2021). De acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), las tortugas verdes marinas fueron clasificadas dentro de la categoría “En Peligro” de extinción desde el año 2013 (Hirama *et al*, 2014).

En el presente documento, se ahondará en la Fibropapilomatosis (FP) de la tortuga verde marina (*Chelonia mydas*) debido a que es la especie con mayor incidencia de dicha patología, aunque esté reportada en las siete especies de tortugas marinas que existen alrededor del mundo (Reséndiz., *et al*, 2022). La FP es una enfermedad infecciosa crónica, proliferativa y debilitante que ocasiona crecimientos tumorales benignos de origen epitelial y mesenquimatoso; los cuales, dependiendo de su localización, tamaño y número, afectan su capacidad visual, natatoria y/o alimenticia; a menudo, con resultados letales como producto de la incapacidad y la emaciación que pueden llegar a generar (Monezi *et al*, 2016). El desarrollo de esta enfermedad se considera

multifactorial porque sus causas, orígenes y desarrollo son complejas. Está asociada con una infección por el alfa herpesvirus quelónido 5 pero, a pesar de lo anterior, la FP es una enfermedad que implica una fase promotora (*a priori*) de los tumores provocada por diversos componentes (Reséndiz., *et al*, 2022).

Los cambios impulsados por el hombre en los hábitats de las tortugas marinas podrían desempeñar un papel fundamental en el aumento del número de casos y la severidad de estos. En relación con lo anterior, es importante resaltar la prevalencia de los tumores asociados al incremento de la temperatura del mar, salinidad, cambios en la densidad de la población humana y la descarga sobre los ríos ubicados en las líneas costeras, entre otros (Manes *et al*, 2022).

Por esta razón, al visibilizar los factores antropogénicos como principales causantes en el desarrollo de esta enfermedad, se contribuye al aumento de la conciencia colectiva, donde se prioriza el cuidado de las especies marinas, así como de los servicios ecosistémicos que brinda su hábitat porque se entiende que son finitos, no renovables y, sobre todo, porque la existencia de la humanidad, tal cual como se conoce hoy en día, depende de ellos.

Objetivos

General

Recopilar información científica reciente, verídica y de calidad acerca de la Fibropapilomatosis en las tortugas marinas de la especie *Chelonia mydas*

Específicos

Identificar la vía de transmisión de la FP en las tortugas marinas, así como la fisiopatología y signos clínicos patognomónicos que se presentan

Dilucidar los cambios ambientales que pueden predisponer la aparición de la FP en la tortuga verde marina *Chelonia mydas*

Determinar los diagnósticos y tratamientos más efectivos utilizados en la literatura actual para el tratamiento de la FP

Resumen

La FP es una enfermedad multifactorial relacionada con el Herpesvirus quelónido 5 (ChHV-5), que afecta principalmente a las tortugas juveniles. Es considerada una epizootia con transmisión horizontal por contacto directo entre individuos o fómites con cargas virales. La FP es una enfermedad infecciosa crónica, proliferativa y debilitante que ocasiona crecimientos tumorales benignos de origen epitelial y mesenquimatoso; los cuales, se pueden ubicar en aletas, zona inguinal, cuello, plastrón, caparazón, cabeza y órganos internos. Dependiendo de su ubicación afectan su capacidad natatoria, de alimentación, huida de depredadores y/o peligros. Su diagnóstico se basa en la observación física de los fibropapilomas más la identificación histológica de estos. Se pueden utilizar pruebas diagnósticas complementarias como PCR y ELISA aunque, este último se debe realizar 4 semanas post infección. El tratamiento disponible de predilección es la escisión quirúrgica con láser de CO2 sin embargo, debido a la cualidad multifactorial de la enfermedad, los esfuerzos deben ser enfocados en la prevención de la presentación de los desencadenantes tumorales ambientales que promuevan el estrés en los individuos y, por consiguiente, la presentación clínica de la enfermedad; así como la eliminación de compuestos citotóxicos y cancerígenos en los ecosistemas acuáticos; la mayoría de ellos, producto de actividades antropogénicas como el turismo, la agricultura y asentamientos costeros.

Debido a lo anterior, las tortugas marinas son consideradas como especie “sombrilla”, porque nos sirven como indicador de la salud ecosistémica en zonas marítimas. Por tal motivo, el presente trabajo busca realizar una revisión sistemática de literatura actual acerca de la enfermedad de Fibropapilomatosis (FP) en la tortuga marina *Chelonia mydas*, por medio de la selección de información de revistas indexadas y con factor de impacto comprobable. Esto con el fin de tener información clara que promueva la protección y cuidado de esta especie, que son indispensables para la preservación de océanos y dunas costeras.

Abstract

FP is a multifactorial disease related to Chelonid Herpesvirus 5 (ChHV-5), which mainly affects juvenile turtles. It is considered an epizootic with horizontal transmission through direct contact between individuals or fomites with viral loads. PF is a chronic, proliferative and debilitating infectious disease that causes benign tumor growths of epithelial and mesenchymal origin; which can be located in fins, inguinal area, neck, plastron, shell, head and internal organs. Depending on its location, it will affect its swimming capacity, feeding, escape from predators and/or dangers. Its diagnosis is based on the physical observation of fibropapillomas plus their histological identification. Complementary diagnostic tests such as PCR and ELISA can be used, although the latter must be performed 4 weeks after infection. The available treatment of choice is surgical excision with a CO₂ laser; however, due to the multifactorial quality of the disease, efforts must be focused on preventing the presentation of environmental tumor triggers that promote stress in individuals and, consequently, the clinical presentation of the disease; as well as the elimination of cytotoxic and carcinogenic compounds in aquatic ecosystems; most of them, the product of anthropogenic activities such as tourism, agriculture and coastal settlements.

Due to the above, sea turtles are considered an “umbrella” species, because they serve as an indicator of ecosystem health in maritime areas. For this reason, this work aims to carry out a systematic literature review about Fibropapillomatosis (FP) in the sea turtle *Chelonia mydas*, through the selection of relevant information obtained from indexed journals with a verifiable impact factor. The information obtained would help to promote the protection and care of these species that are essential for the preservation of oceans and coastal dunes.

Marco de Referencia

Coevolución virus-huésped

Los Herpesvirus (HV) se caracterizan por afectar un rango variado de hospederos, ciclos de replicación cortos, la habilidad de destruir células infectadas y establecer infección latente (Alfaro-Núñez *et al*, 2014). Algunos autores han postulado la teoría que el ChHV-5 existiera entre las tortugas marinas desde hace al menos 8.9 millones de años y ha evolucionado durante este periodo de tiempo sin causar daños a su hospedador. Sin embargo, hoy en día factores ambientales extrínsecos promueven el desarrollo de las lesiones (Garcês y Pires, 2022).

El virus de la Fibropapilomatosis se volvió específico para la tortuga marina aproximadamente hace 300 millones de años. Y se identificó la existencia del ancestro común más reciente de las variantes actualmente conocidas en un periodo desde hace unos 193-430 años. Esto soporta la hipótesis que el ChHV5 no es un virus nuevo ni surgió a partir de mutaciones previas de otros virus, si no que, es dependiente de promotores para su desarrollo (Jones *et al*, 2016). La FP se reporta inicialmente en tortugas verdes en la década de 1930 en Florida (EU) (Garcês y Pires, 2022) lamentablemente, desde entonces, el número de brotes reportados ha ido en aumento (Patrício *et al*, 2016).

Epidemiología

De acuerdo con Page-Karjian (2014) la FP es considerada una panzootia con focos epizoóticos en Florida, Hawái y el Caribe, que afecta a tortugas marinas que se distribuyen en aguas cálidas de los trópicos y sus alrededores, se asocia a hábitats someros con poca renovación de agua, con impactos antropogénicos, que reciben residuos de la industria hotelera, agrícolas y de urbanizaciones (Reséndiz., *et al*, 2022). Las tortugas marinas no parecen estar enfermas hasta que llegan a las zonas de alimentación, soportando la hipótesis de infección local, ya sea por primoinfección o por desencadenantes ambientales específicos del lugar (Patrício *et al*, 2016). Hay que tener en cuenta que algunas de las tortugas infectadas pueden no presentar tumoraciones debido al carácter latente de la infección (Alfaro-Núñez *et al*, 2014).

La prevalencia varía entre regiones y años, estudios han demostrado la distribución heterogénea de las variantes de ChHV5 dentro de los diferentes tipos de muestreo. Por consiguiente, se descarta la relación entre el origen de la tortuga, el tipo de tejido analizado y la especie respecto a las variantes virales. También se reportaron diversas variantes del virus al mismo tiempo dilucidando los recambios de nucleótidos de ChHV-5 dentro de un solo hospedero (Reséndiz., *et al*, 2022). Por otro lado, se ha demostrado que el ADN viral no se encuentra difundido sobre toda la piel de las tortugas, así estén infectadas (James *et al*, 2021).

Con la aplicación de tecnologías ómicas, Duffy *et al* (2018) afirmaron que la FP tiene genes relacionados con las neuronas como parte del crecimiento tumoral. Hipótesis apoyada por el hecho que el ChHV5, se ha demostrado, reside en nervios periféricos y centrales que inervan los tejidos afectados por los FPs (Page-Karjian *et al*, 2017). Lo anterior, permite tener en consideración la existencia de individuos recuperados sin signos clínicos aparentes; los cuales, entran a una etapa de latencia del virus, convirtiéndose en portadores de la enfermedad.

Transmisión horizontal

Transmisión directa: la transmisión viral ocurre por contacto directo cuando las tortugas (sobre todo juveniles) ingresan a zonas costeras de alimentación, en donde suele haber una alta densidad de individuos y ocurre contacto físico entre ellas (Reséndiz., *et al*, 2022). Mediante las técnicas de PCR se ha podido detectar la presencia del agente viral en el 44% de las secreciones ocular y el 20,83% en la saliva (Monezi *et al*, 2016), sumado a lo anterior, hay que considerar la carga viral proveniente directamente de los FPs (Page-Karjian *et al*, 2017).

Transmisión indirecta: partículas virales en fómites como el agua, la arena y los sedimentos. Como vectores mecánicos se proponen los parásitos trematodos espiróquidos, peces limpiadores labrido ensillado (*Thalassoma dupereii*) y sanguijuelas marinas del género *Ozobranchus spp.* Mediante PCR también se ha detectado ADN de ChHV5 en pulmón, riñones, orina, tejidos linfoides e hisopados cloacales de tortugas marinas sin manifestaciones clínicas de FP, lo cual sugiere que estos tejidos pueden ser una fuente potencial de diseminación viral hacia el medio marino, principalmente los riñones y la vejiga, pues se han encontrado cargas virales más altas en estos órganos (Page-Karjian *et al*, 2017). También se ha detectado ADN viral en sangre y en tejido nervioso (ganglios sensoriales de nervios craneales y médula espinal), de manera que dichos tejidos podrían fungir como un mecanismo de transporte viral desde los sitios en donde el virus se encuentra de manera latente, hacia los sitios en donde se desarrollaran los tumores en el futuro, o viceversa (Reséndiz., *et al*, 2022).

Transmisión vertical

Se ha detectado ChHV5 en crías y embriones de tortugas marinas, aun así, se desconoce el mecanismo exacto de transmisión (Reséndiz., *et al*, 2022).

Sistemas Humanos y Naturales

Los Sistemas Humanos y Naturales (CHANS por sus siglas en inglés), es un concepto utilizado comúnmente en la ecología interdisciplinaria para describir sistemas humano-animal. Son sistemas intrincados que envuelven la participación e interacción entre las dimensiones humanas y naturales (Manes, *et al*, 2023). Las enfermedades infecciosas emergentes como el FP son una parte importante del CHANS; ya que, al comprender lo esencial de estas interacciones, se puede trabajar desde la conservación porque se entiende que las alteraciones que recaigan en ciertas dinámicas dentro del CHANS pueden crear una cascada de efectos que conducen a resultados negativos, como brotes de enfermedades infecciosas en los animales humanos y no humanos.

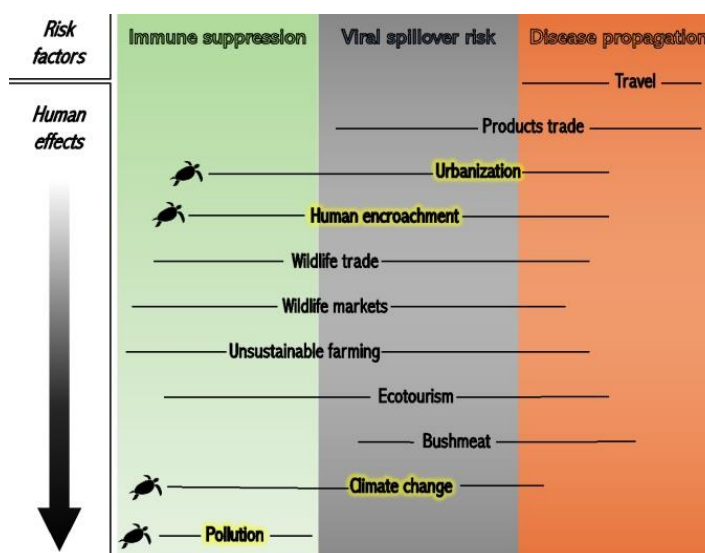
Entre el 2000 y 2014 se han podido identificar hasta 70 nuevas enfermedades en fauna silvestre, este incremento, es atribuido en parte al aumento de la frecuencia y magnitud de actividades antropogénicas de efecto local, nacional y de escalas globales (Manes *et al*, 2023). Aunque el ChHV-5 no es un agente zoonótico, sí representa un foco viral para otras especies de reptiles (Garcês y Pires, 2022).

Lamentablemente hoy en día, sólo el 15% de las dunas costeras del mundo se consideran prístinas o mínimamente afectadas por la presión antropogénica; además, 15 de las 20 megaciudades con densidad poblacional de más de 10 millones de individuos, se encuentran en las zonas costeras, convirtiéndolas así en CHANS (Manes *et al*, 2023). Las tortugas verdes juveniles, son en sí mismas miembros del CHANS “Sistemas Costeros” al habitar la porción nerítica de la costa y recibir los efectos acumulativos de las áreas urbanas, los desagües, la pesca, actividades recreativas en el mar y la navegación (Manes *et al*, 2023).

Hasta el momento, se han podido establecer tres factores principales de riesgo para el desarrollo de enfermedades infecciosas en la vida silvestre como consecuencia de las actividades antropogénicas (figura 1): supresión inmunitaria, esparcimiento viral y propagación de la enfermedad (Manes, *et al*, 2023).

Figura 1

Clasificación de los factores de riesgo de acuerdo con las actividades antropogénicas



Nota: Supresión inmunológica (recuadro verde), riesgo de esparcimiento viral (recuadro gris), propagación de la enfermedad (recuadro naranja). Las líneas negras aplican para cada actividad antropogénica y su longitud se extiende horizontalmente según las áreas que abarque su efecto. Tomado de *A coupled Human and Natural Systems Framework to Characterize Emerging Infectious Animals*, de Manes et al, 2023.

Un ejemplo que relaciona esta trilogía con la FP es el estudio realizado por Patrícia *et al* (2016) en Puerto Manglar y Tortuga Bay (Puerto Rico) donde demostraron la existencia de la variante ChHV5 en tortuga marina previa a un brote de FP, teniendo como gatillo para la expresión de la enfermedad el factor medioambiental (Patrícia *et al*, 2016).

Métodos y técnicas de trabajo

Se realizó una búsqueda de información en revistas científicas indexadas y con factor de impacto comprobable en JCR (Journal Citation Reports), incluyendo investigaciones originales, revisiones sistemáticas y metaanálisis, ensayos clínicos, relatos de caso, libros y series de casos. Se recopiló información relacionada con la etiología, fisiopatología, signos clínicos, diagnóstico, tratamiento e impacto ambiental de la FP en tortugas marinas. Se seleccionaron 25 artículos para la revisión de literatura, utilizando todo el contenido de los documentos, con factor de impacto promedio de 3.63, siendo el más bajo el de Pesquisa Veterinaria Brasileira con 0,60 y el más alto Science of the total Environment con 10,75.

La estrategia de búsqueda se realizó por medio de diferentes bases de datos, incluyendo Scopus, Pubmed, Science Direct, Web of Science, Scielo y Google académico. Se contemplaron documentos en inglés y español cuyo periodo de publicación estuviese entre el año 2013 y 2023, utilizando los siguientes términos y operadores booleanos:

Fibropapiloma, Fibropapillomatosis, neoplasia, infección * Herpesvirus, Fibropapiloma y tortuga verde, Fibropapiloma y tortugas marinas, histopatología y fibropapiloma, hematología y fibropapilomas, Fibropapilloma* and marine and turtle*, Fibropapillomatosis and turtles, Fibropapilloma* and green and turtle, Histology and fibropapillom* and turtle*.

Se excluyeron aquellos manuscritos que no se ajustaran al tipo de publicación requerida (investigaciones originales, revisiones sistemáticas y metaanálisis, ensayos clínicos, relatos de caso y series de casos), con fecha de publicación anterior al año 2013 y que no estuviesen en revistas indexadas y con factor de impacto reportado en JCR.

Revisión sistemática y analítica

Las tortugas marinas son reptiles acuáticos susceptibles a cambios medioambientales debido a que son animales longevos que, a pesar de acceder a varios hábitats a lo largo de su vida, exhiben un alto grado de fidelidad al sitio de alimentación junto con la filopatría observada en las hembras adultas para la anidación. Debido a estas cualidades, cualquier daño o destrucción de estos sitios conlleva a efectos extremadamente perjudiciales sobre su salud y existencia (Jones *et al*, 2016).

Las tortugas recién nacidas tienen una existencia pelágica y se reclutan en las aguas costeras a la edad de 3 a 5 años donde se asocian con las praderas de pastos marinos o arrecifes de coral por el resto de su vida, con la excepción de la migración en la etapa de reproducción (Jones *et al*, 2015).

Agente Etiológico

Aunque la FP es considerada como una enfermedad multifactorial, se ha relacionado con la especie Herpesvirus quelónido 5 (ChHV-5) de la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphaherpesvirinae* del género *Scutavirus* (Reséndiz., *et al*, 2022). Se han identificado cuatro grupos filogeográficos de ChHV5: Pacífico oriental, Atlántico occidental/Caribe oriental, Pacífico occidental medio y Atlántico, los cuales, pueden presentarse simultáneamente en una sola población y hospedero (Jones *et al*, 2016).

ChHV-5 es un virus de ADN bicatenario lineal, compuesto por aproximadamente 132 kpb. Mide 120 a 350 nm de diámetro. Tiene cápside icosaédrica envuelta por un tegumento proteico que, a su vez, está rodeado por una envoltura que contiene poliaminas, lípidos y glicoproteínas antigénicas esenciales (Reséndiz., *et al*, 2022). Los núcleos agrandados de las

células con cuerpos de inclusión intracelulares eosinofílicos o basofílicos (Figura 2) sugieren infección viral (Monezi *et al*, 2016).

Figura 2

Proliferación epidermal con infección viral

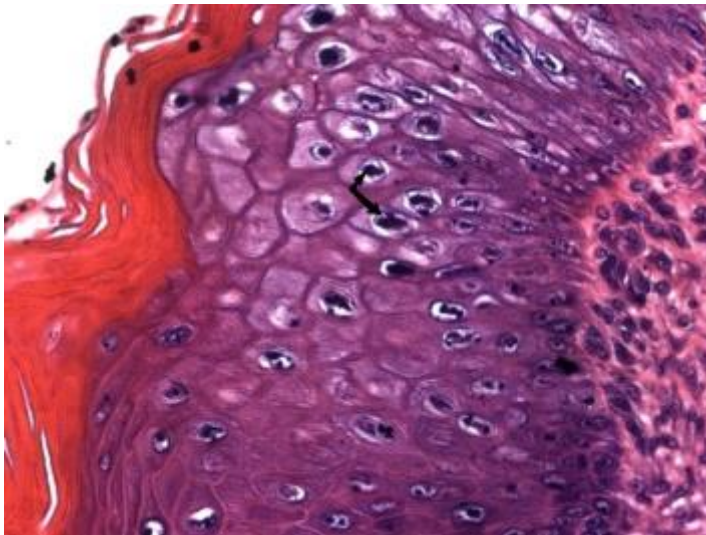


Figura 2. Nota: Epidermis proliferativa con células balonizadas con cuerpos de inclusión intracelular (flechas negras). Tomado de *Histopathological section of fibropapilloma, green turtle*, de Zwarg et al, 2014, Pesquisa Veterinaria Brasileira <https://www.scielo.br/j/pvb/a/hMX5ZRpVZ3ZGpgFhYM87swv/?format=pdf&lang=en>

Se asocia el HV a la FP cuando se logra observar a través del microscopio, cuerpos de inclusión intracelulares en las células epiteliales de los Fibropapilomas (Reséndiz., *et al*, 2022) junto con las lesiones macroscópicas. Los HVs se replican dentro de los núcleos de las células huésped y pueden permanecer latentes dentro del hospedero (Okoh *et al*, 2021).

Predisposición

Como se ha mencionado previamente, la FP es una enfermedad multifactorial que depende de cofactores, tanto del individuo como del medioambiente. Aun no se ha encontrado predisposición sexual en la FP (Jones *et al*, 2015) por el contrario, sí se han identificado

tendencias etarias. A pesar que esta enfermedad afecta a tortugas adultas y juveniles, estas últimas de tamaño mediano, cuyo caparazón oscila entre los 40-60 cm largo curvo parecen más propensas a adquirir FP, mientras, las tortugas con un promedio de 65 cm largo curvo consideradas subadultas, si llegasen a adquirir la enfermedad, tienden a autolimitarla (Patrício *et al*, 2016).

Metales pesados

El estrés oxidativo inducido por exposición a metales puede causar oxidación de lípidos, proteínas y ADN, generando subproductos como peróxido, alcoholes, aldehídos, cetonas, y óxido de colesterol. La mayoría de ellos tóxicos para los linfocitos y macrófagos, afectando así, el sistema inmunitario (Da Silva *et al*, 2016). Además, el daño oxidativo inducido por metales altera los genes que controlan la proliferación y muerte celular, se alterarían los ciclos celulares, dando lugar a la iniciación de procesos cancerígenos (Da Silva *et al*, 2016).

Niveles sanguíneos elevados de Cu y Pb en sangre inhiben la actividad de la 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR) sérica. La actividad reducida de esta enzima ocasiona una producción baja de colesterol, elevando así la peroxidación lipídica. También se haya relación directa entre el aumento de γ -globulinas y el aumento de la concentración de mercurio. En tortugas moderadamente afectadas, las concentraciones de plomo, arsénico, cadmio y selenio se hallaron entre 2.6 y 4.1 más elevadas que en tortugas sanas (Perrault *et al*, 2017).

Radiación UV

Las tortugas verdes son principalmente recolectoras bentónicas y se alimentan de algas y pastos marinos en profundidades de hasta 40 metros; la luz UV es absorbida por el agua de mar mientras más profundidad alcance, 90% de la radiación solar se absorbe en los primeros 15 m de

profundidad (Dujon *et al*, 2021). El incremento del ingreso de luz ultravioleta (UV) a los mares, debido al cambio climático contribuye a la aparición de FPs porque la UV se asocia a daño sobre el ADN y, por consiguiente, aumento en la tasa de mutación de este, además, se relaciona con inmunodepresión (Garcês y Pires, 2022). Las tortugas juveniles, que han sido las más afectadas por esta enfermedad debido a su hábito de pastoreo, habitan en aguas más expuestas a los rayos UV, temperaturas elevadas del agua y por consiguiente, fenómenos de marea roja asociada (Duffy *et al*, 2018).

Temperatura del agua

Algunos estudios han demostrado que el incremento en la temperatura del agua predispone a la formación y propagación de la FP. Por un lado, este aumento contribuye a la eutrofización de los mares, liberando exceso de nitrógeno y fósforo que promueve la proliferación (hasta agotar los silicatos) de fitoplancton tóxico como las diatomeas las cuales, son parte de la base dietaria de las tortugas verdes (Zwarg *et al*, 2014). Adicionalmente, extensos periodos de temperaturas elevadas (>30°) aumentan la estratificación del agua, favoreciendo las floraciones de fitoplancton tóxico (Dujon *et al*, 2021)

De acuerdo con un estudio realizado por Perrault *et al* (2020) en el Big Bend de Florida a 21 tortugas juveniles, en un periodo sin previos reportes del fenómeno de “marea roja”, la toxina mayormente encontrada en el cuerpo de estos reptiles fue el ácido domoico (28,6%), seguido de lyngby toxina- A, microcistina LR y RR, nodularina y ácido okadaico (9,5% cada una). Además, 61,9% de la muestra de estudio tenía al menos una toxina de las nombradas previamente, positivas para dos toxinas el 19.1% y 38, 1% de las tortugas tenían rastro de todas las toxinas mencionadas previamente. Estas toxinas han sido conocidas por ser un cofactor en el desarrollo de la FP y es preocupante que existan trazos en sangre aun en periodos sin “marea roja”. Un

incremento en la concentración de arginina, de hasta 14 veces el nivel de referencia en la dieta de las tortugas verdes marinas, como resultado de la proliferación masiva de macroalgas, ha sido asociado al aumento en la prevalencia de FP (Jones *et al*,2016).

Las poblaciones de tortugas cuyo centro de alimentación es la costa oeste de Florida, están expuestas a floraciones de algas marinas nocivas de *Karenia brevis* la cual, libera potentes neurotoxinas lipofílicas conocidas como brevetoxinas. Debido a lo anterior, se han reportado diversos efectos como aumento de los varamientos, alteraciones en el sistema inmunitario, función neurológica, mortalidad, incluso se han encasillado como promotores tumorales por considerarse como indicativos de inflamación e inmunomodulación al incrementar las γ -globulinas. Este aumento se encuentra en individuos con FP leve o moderada; cuando están severamente comprometidas, empiezan a estar significativamente disminuidas, así como las concentraciones de albúmina y las α -globulinas (Perrault *et al*, 2017).

Por otro lado, el estrés térmico de su medio acuático puede llegar a alterar la respuesta inmunitaria frente a las infecciones virales en los poiquiloterms; ya que, su metabolismo es altamente influenciado por los cambios en la temperatura marina (Manes *et al*,2022). Experiencias previas con tortugas marinas en cautiverio han mostrado el desarrollo de tumores durante los meses más cálidos del año (Garcês y Pires, 2022) así como el aumento de la virulencia de los Herpesvirus (Dujon *et al*, 2021). Esta perturbación ambiental ha coincidido con brotes consistentes y crecientes de FP en la naturaleza. En los últimos 50 años, el incremento a nivel global de la prevalencia de FP se ha traslapado con un incremento de un tercio de grado en el océano (Manes *et al*,2022).

Contaminantes ambientales

El impacto negativo de los contaminantes ambientales de aguas residuales en la salud de las tortugas marinas se ha discutido desde 1995; desde ahí, ha venido en aumento la evidencia. Contaminantes como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), los polibromobifenilos (PBBs) y los pesticidas organoclorados, se clasifican como algunos de los contaminantes del agua con mayores efectos oncogénicos y de iniciación tumoral conocidos. Se ha demostrado en las tortugas verdes la capacidad para bioacumular esta clase de contaminantes oncogénicos, encontrándose concentraciones mayores de HAPs y PBBs en tortugas gravemente afectadas con FP en comparación con tortugas aparentemente sanas (Manes, *et al*, 2023).

A pesar de que la incidencia de la enfermedad ha ido creciendo en las últimas décadas, la razón es aún incierta (Manes *et al*, 2022). Aun así, varios estudios, como por ejemplo el realizado por Narita *et al* (2021) con hidrocarburos aromáticos policíclicos, mostraron que tortugas con FP tienen altas concentraciones de este contaminante en el hígado a comparación de aquellos que no tienen FP.

Fisiopatología

La expresión de los FPs ocurre $1,8 \pm 0,8$ años después de la adquisición del virus. Desde la expresión hasta la total resolución del cuadro clínico, puede pasar entre $0,7 \pm 2,7$ años (Patrício *et al*, 2016). La infección por HVs comienza por la entrada viral seguido de la propagación local o sistémica, el proceso se puede dividir en cuatro etapas:

La primera es la replicación intracelular y ensamblaje de la cápside: las glicoproteínas gB, gC, gD, gH, gK, gL, gM y gN actúan en la unión y entrada a la célula huésped. La gB y gC son capaces de unirse a proteoglicanos de heparán sulfato que están presentes en las superficies de muchas células animales, en este caso, su célula diana son los fibroblastos, lo que contribuye

a la adsorción y penetración a la célula huésped (Okoh *et al*, 2021). Seguidamente ocurre la expresión de enzimas metabólicas y sintéticas de ADN conllevando a la muerte de la célula huésped seguido de la liberación de progenies virales.

También se ha demostrado que gB, gE, gH y gL están involucradas en la propagación viral de célula a célula, lo que podría ocurrir a través de puentes intercelulares o transporte intraxonal, eludiendo así las respuestas inmunitarias humorales. De manera similar, la gC puede unirse a C3b para bloquear la activación del complemento de la vía alternativa (Okoh *et al*, 2021).

La replicación viral productiva y la eliminación de virión ocurre en queratinocitos tumorales epidérmicos con una infección latente de fondo en fibroblastos dérmicos. El ADN circulante puede entrar a órganos diana secundarios a través de la multiplicación endotelial, fijación a macrófagos, a través de uniones gaps endoteliales o siendo transportados en leucocitos circundantes (Page-Karjian *et al*, 2017).

Genes como el lfi6 inducidos por la actividad del interferón, son biomarcadores predictivos, capaces de discriminar entre buenos y malos pronósticos para los casos de FP debido a su función reguladora en la apoptosis. Los genes involucrados en la respuesta inmunitaria y la muerte celular programada, usualmente se encuentran disminuidos en pacientes con malos pronósticos (Yetsko *et al*, 2021). En el caso de la inmunosupresión, puede no ser un requisito previo para el desarrollo de FP, sino una consecuencia del estado avanzado de la enfermedad porque los tumores en la etapa temprana de desarrollo cuentan con un alto nivel de infiltración de linfocitos, principalmente en la región epidérmica del tumor, pero, en aquellas tortugas que presentan FP severa, se reportan estados de inmunosupresión, así como una regulación negativa de los genes relacionados con la inmunidad. En conjunto estos hallazgos sugieren que el

desarrollo de estos tumores se asocia primero con un aumento y luego con un agotamiento de las respuestas inmunitarias (Reséndiz., *et al*, 2022). Varias proteínas observadas en los tumores de la FP, consideradas atípicas para los alfaherpesvirus, han sido asociadas a la activación o inhibición de las células NK, por lo tanto, los procesos inflamatorios activos ocurren dentro y alrededor de los FPs en respuesta a la alta carga viral que se encuentra en estos tejidos (Perrault *et al*, 2021).

Descripción macroscópica

El rango de colores de los FPs es muy variado, puede ir desde rosa claro, verde, gris, hasta negro; la tonalidad va a depender de la cantidad de melanóforos y melanomacrófagos presentes en el tejido afectado. La textura de los tumores va desde suave hasta verrugoso y pueden ser sésiles o pedunculados (Monezi *et al*, 2016). Las úlceras y pequeños sangrados surgen de acuerdo con el nivel de vascularización de los tumores, también influye la localización en el cuerpo y su probabilidad de traumas mecánicos.

El grado de severidad de la enfermedad es directamente proporcional al tamaño del fibropapiloma, teniendo un rango que va desde 0,1 cm hasta 30 cm de diámetro (Dujon *et al*, 2021). Estos tumores pueden ser únicos o múltiples y dependiendo de la ubicación anatómica que tengan, pueden aumentar el detrimento de la salud de la tortuga marina. En el caso de los ojos, los FPs pueden llegar a afectar la córnea, la esclera, conjuntiva y/o piel periocular (Page-Karjian *et al*, 2014) hasta llegar a causar panofthalmia y destrucción del globo ocular (Garcês y Pires, 2022).

Descripción microscópica

Las fases de desarrollo temprano de la FP están asociadas con lesiones papilomatosas, proliferación de células epidérmicas donde se involucra poco o nada la capa dérmica. La fase

crónica de las lesiones desarrolla la presencia marcada de fibromas, con proliferación en la capa dérmica mientras que la capa epidérmica permanece normal. FPs representa la fase intermedia de las lesiones, donde se encuentran las características de ambos, los papilomas y los fibromas (Jones *et al*, 2015).

Las dos principales características histológicas por las cuales se nombra esta enfermedad como FP es porque, primero, hay gran proliferación de fibroblastos en la dermis y segundo, ocurre la formación de papilas a nivel de la epidermis. En el estrato corneo hay hiperqueratosis ortoqueratótica (células sin núcleo en el estrato superficial de queratina), aumentando el grosor del estrato corneo. En este estrato también se encuentran células con vacuolización, relacionados con los procesos subyacentes de la capa basal. La formación de pústulas es debido a la aglomeración de granulocitos, en casos severos de degeneración celular y acantolisis, las pústulas pueden progresar y convertirse en úlceras. Estas últimas se caracterizan por infiltración de granulocitos, cubiertos por detritos celulares y material proteico (Zwarg *et al*,2014). En muchos casos, cuando la hiperqueratosis es pronunciada y se combina con la hiperplasia epidérmica papilar, se forman quistes que incluyen gran variedad de tamaños y cantidades (Zwarg *et al*,2014).

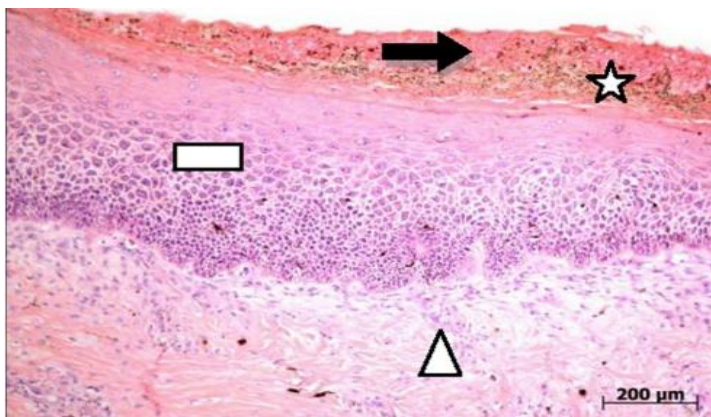
A nivel microscópico se observan proyecciones papilares soportada por una abundante base fibrovascularizada. La formación de este aspecto fibromatoso en el estroma, contiene principalmente tejido conectivo fibroso, con la superficie relativamente plana. También hay un aumento en el grosor de la dermis como resultado del estroma hiperplásico, rico en tejido conectivo y vasos sanguíneos (Zwarg *et al*,2014).

Como se puede ver en la figura 3, las células de la epidermis cuentan con una gran variación en la proliferación celular y, a comparación de una tortuga saludable, la capa germinal

cuenta con más de 30 capas celulares. En la capa basal, se encuentran vacuolas a nivel del citoplasma celular, con necrosis. Los cambios degenerativos pueden traer como resultado la separación de la capa de la dermis y la epidermis. Cuando esto toma un espacio importante, la parte superior de la epidermis puede presentar necrosis y ulceración (Zwarg *et al*, 2014).

Figura 3

Sección histopatológica de un fibropapiloma, tortuga verde, HE, obj.10x.



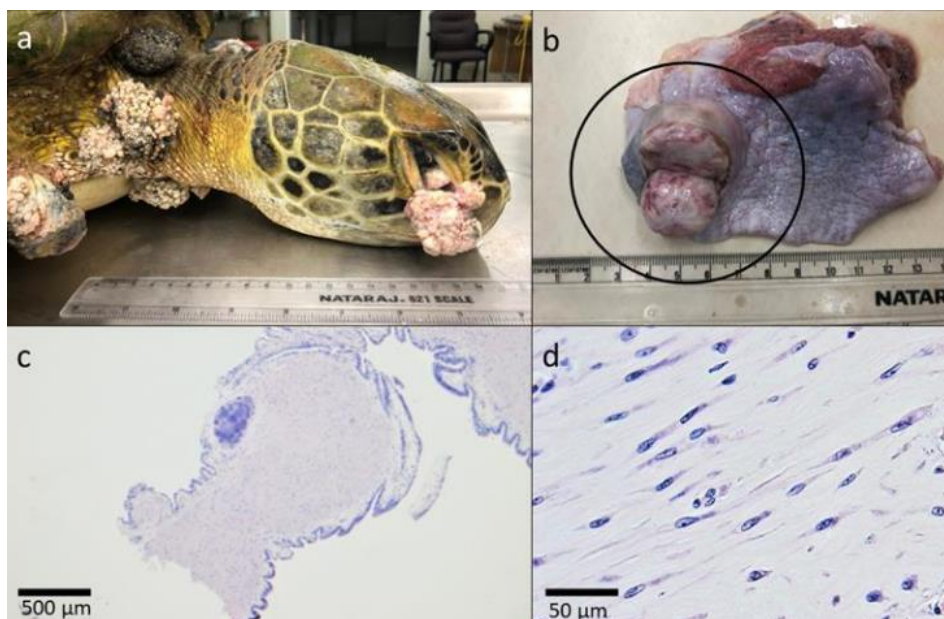
Nota. Gran cantidad de proliferación de células a nivel epidermal (rectángulo). El estrato corneo se encuentra engrosado, hay un área de ulceración y acumulación de células muertas (flecha negra). Debajo de este punto hay un ligero desprendimiento de la capa corneal y la epidermis (estrella). También hay proliferación de la dermis (triángulo), con distribución extensa de tejido conectivo suelto, bien irrigado por vasos de diferentes tamaños. Tomado de *Histopathological section of fibropapilloma, green turtle*, de Zwarg *et al*, 2014, Pesquisa Veterinaria Brasileira <https://www.scielo.br/j/pvb/a/hMX5ZRpVZ3ZGpgFhYM87swv/?format=pdf&lang=en>

A nivel de las masas oculares, los tumores de la conjuntiva se caracterizan por un alto grado de arborización (Monezi *etl al*, 2016). Las tortugas con tumores oculares tienen peor pronóstico que aquellas sin tumores en esta zona (Page-Karjian, 2014). En la figura 4 se puede apreciar un individuo con FPs a nivel del cuello, los hombros y presencia bilateral en la conjuntiva ocular, con extensión hasta la córnea (4a). Este caso de FP fue el primero reportado en Granada, West Indies en el 2021 por James *et al*. Además de las lesiones macroscópicas

evidentes, al momento de la necropsia se haya fibroma focal de 3 cm de diámetro en el parénquima del pulmón craneal derecho (4b). Las características histomorfológicas consistían en fibropapilomas pedunculados que comprendían células fusiformes bien diferenciadas y separadas por un estroma fibrovascular abundante (4c), el epitelio suprayacente estaba cubierto por tejido con hiperqueratosis ortoqueratótica con presencia de agregados multifocales de heterófilos, linfocitos, plasma y trombos vasculares dispersos dentro de los tumores (4d).

Figura 4

Hallazgos en necropsia del primer caso confirmado de Fibropapillomatosis en Granada en una tortuga verde (Chelonia mydas)



Nota: Aspecto macroscópico de fibropapiloma (a) y (b) fibroma dentro del parénquima pulmonar. Histomorfoloía del tumor en aumento 2x y (d) aumento 40x. Tomado de *Chelonid Alpha herpesvirus 5 prevalence and first confirmed case of sea turtle Fibropapillomatosis in Grenada, West Indies. James et al, 2014 Animals* <https://doi.org/10.3390/ani11061490>

Diagnóstico

La inspección visual se debe realizar con orientación craneal-caudal y dorsal-ventral. Revisar las condiciones nutricionales en las que se encuentra el individuo; se debe evaluar el tono muscular realizando movimientos en las aletas y el cuello. Observar la apariencia de la piel y de todas las superficies externas de la cabeza, caparazón, plastrón y cola. Si es posible hacer inspección de aberturas naturales y mucosas externas como los ojos, unión entre maxilar y mandíbula y, si se puede, en el interior de la boca (Reséndiz., *et al*, 2022). Para el examen físico, hay que tener en consideración que las tortugas pueden desarrollar los tumores entre la semana 15 y 43 tras la exposición, aun así, los individuos afectados no necesariamente deben presentar fibropapilomas (Dujon *et al*, 2021).

La prueba de ELISA es utilizada para identificar anticuerpos contra el ChHV-5 por ser altamente sensitiva y específica, pero hay que tener en cuenta los tiempos; ya que, como lo menciona Okoh *et al* (2021), estudios realizados en tortugas muestran la presencia de estos anticuerpos en suero recién cuatro semanas post exposición. Lo anterior debe ser considerado para clasificar la enfermedad como activa o latente. La viremia suele ser indicativa de replicación viral y puede ser detectable sólo durante el evento de infección primaria o una reactivación de infección latente (Reséndiz., *et al*, 2022).

La PCR y qPCR son los protocolos de detección dirigidos a los genes que codifican para la ADN polimerasa (UL30), para proteínas de la cápside (UL18), de la envoltura viral (Glicoproteína B y H), así como para genes atípicos (F-Sial) (Reséndiz., *et al*, 2022). Para que el ChHV-5 pueda crecer *in vitro*, es necesario realizar una réplica de la piel de la tortuga marina; ya que, en los cultivos convencionales es resistente a la replicación.

Si se tiene disponibilidad, realizar tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM) ya que estas técnicas no requieren anestesia y suelen ser más precisas para

identificar pequeños tumores internos (Reséndiz., *et al*, 2022). Si a través de las pruebas complementarias previamente mencionadas se hayan lesiones, es recomendable realizar biopsia o laparoscopia, aunque esta última no funciona en el caso de lesiones a nivel dorsal de los pulmones y riñones (Page-Karjian *et al*, 2014).

Hematología y bioquímica

Las tortugas marinas con FP a menudo están emaciadas, debilitadas y/o caquécticas. La FP grave se ha asociado a diversas anomalías en los analitos hematológicos y bioquímicos, los cuales incluyen anemia, leucopenia, linfopenia, monocitosis, eosinofilia, y heterofilia (Jones *et al*, 2015). También se puede observar aumento de las enzimas hepáticas y disminución de la urea, creatinina, hipocolesterolemia, hipoproteinemia, hipocloremia, hipocalcemia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia sugerentes de anemia por enfermedad crónica y estimulación antigénica (Reséndiz., *et al*, 2022). En el caso de hallarse un aumento de nitrógeno ureico en sangre (NUS), puede ser debido al aumento del catabolismo gracias a la dieta rica en proteínas (Page-Karjian *et al*, 2014).

A pesar de que en la actividad proliferativa de los linfocitos T aparentemente no hay un cambio significativo (a menos que se esté en etapas avanzadas de la enfermedad), sí se observan marcadas diferencias respecto a las células Natural Killer (NK), donde al comparar entre tortugas sanas y con FP, en estas últimas, la actividad de las NK fue mucho menor que en los individuos sanos (Perrault *et al*, 2021).

Tratamiento

El cuidado de las tortugas con FP debe incluir agua de buena calidad y temperatura adecuada (23-27°C), nutrición apta y apropiada para la especie y edad de la tortuga,

fluidoterapia, manejo de dolor y tratamiento de infecciones secundarias. Aunque la evidencia sugiere que algunas tortugas marinas con FP menos severa sufrirán regresión espontánea de las tumoraciones, esto no debería esperarse en la mayoría de los casos (Reséndiz., *et al*, 2022). Para aquellos individuos con hipocalcemia se puede suplementar con calcio oral en casos moderados y en casos severos, se inyecta calcio ionizado intramuscular en [0,7 mg/dl] a una dosis de 100 mg/Kg TID. Una suplementación adicional con vitaminas D y E contribuyen a la estabilización de los parámetros bioquímicos (Page-Karjian *et al*, 2014).

La escisión quirúrgica es actualmente la forma más efectiva de tratar las lesiones cutáneas, orales y oculares. Se puede utilizar anestesia local o general, según el tamaño, el número y el grado de invasividad de los tumores. Las escisiones de múltiples tumores tienden a requerir anestesia general. El láser de dióxido de carbono es la principal técnica elegida para la extirpación de tumores. Otras opciones incluyen escisión aguda, escisión local amplia, criocirugía, electrocauterización, electroquimioterapia y terapia fotodinámica (Reséndiz., *et al*, 2022). Los últimos dos tratamientos no son quirúrgicos y se han estado considerando al no presentar reportes de reaparición tumoral (Okoh *et al*, 2021).

El láser de CO₂ ayuda a minimizar las hemorragias en el sitio de extirpación del tumor, puesto que simultáneamente cauteriza y sella el o los sitios de escisión mientras corta el tejido. Por lo general, no se necesitan suturas y los sitios de escisión del tumor pueden dejarse abiertos para que cicatricen por segunda intención, no obstante, puede que se necesiten suturas en el caso de la extirpación de un tumor muy profundo. Es importante realizar un seguimiento posoperatorio, dejando en observación a los pacientes en tinas secas durante y hasta 24 horas después de la cirugía. Después de este periodo y para reducir la probabilidad de que el tumor vuelva a crecer, se baja la temperatura del agua del tanque de mantenimiento entre 2°C y 5°C

para ayudar a prevenir la reactivación viral. Las lesiones cutáneas suelen curarse completamente en 12 semanas (Reséndiz., *et al*, 2022).

Varios autores recomiendan el uso de aciclovir y ganciclovir como complemento a la terapia antibiótica por la eficacia que ha mostrado en el tratamiento de infecciones por HVs. La inhibición de la replicación viral *in vitro* se ha confirmado con dosis únicas o repetidas de 25 o 50 µg/mL. El uso en conjunto de 5-fluorouracil (5-FU) con la extirpación de los tumores, redujo drásticamente la tasa de recrecimiento tumoral posquirúrgico (Okoh *et al*, 2021).

En el caso que se contemple la eutanasia, las razones más consistentes serían aquellos pacientes con tumores bilaterales que involucren las córneas y causen ceguera, reaparición agresiva de tumores y presencia de tumores internos (Page-Karjian *et al*, 2014).

Para las tortugas en cautiverio, se recomiendan los procedimientos de cuarentena y pruebas adecuadas al momento de la adquisición de nuevos individuos. Manejar estrictas prácticas de higiene y bioseguridad en todas las instalaciones; además, los animales recuperados o seropositivos deben ser tratados como portadores, esto debe representar cuidados en factores que puedan desembocar en inmunosupresión como el estrés, una crianza inadecuada o enfermedades concomitantes (Okoh *et al*, 2021).

Conclusiones y recomendaciones

Aunque la etiología de la FP no es plenamente comprendida, lo que sí se sabe es que ocurre una sinergia entre el virus quelónido 5 y factores medioambientales desencadenantes de la enfermedad. Por un lado, la principal vía de transmisión de la FP es el contacto directo entre individuos enfermos con los sanos o, por contacto de estos con partículas virales a través de fómites. Hay que tener en cuenta que los individuos recuperados o sin signos clínicos siguen

siendo portadores de la enfermedad de por vida, complicando la erradicación de la patología en las comunidades marinas.

El color de los FPs depende de la cantidad de melanóforos y melanomacrófagos del tejido afectado, pueden ser de textura suave a verrugosa y con características sésiles o pedunculadas. A nivel microscópico ocurre una proliferación de fibroblastos en la dermis con formación de papilas a nivel epidermal, con hiperqueratosis ortoqueratótica en el estrato córneo y el grado de severidad de la enfermedad es directamente proporcional al tamaño de los FPs . A nivel hematológico y bioquímico las alteraciones en los analitos muestran anemia, inflamación crónica, estimulación antigénica y disminución en la actividad de las células Natural Killer.

Para realizar un diagnóstico adecuado hay que tener en cuenta que el tiempo de desarrollo de las masas tumorales es entre 15-43 semanas post exposición. Si se cuenta con la posibilidad de realizar PCR, los resultados van enfocados en la identificación de genes que codifican ADN polimerasa, proteínas de la cápside y la envoltura viral. El tratamiento de la FP más utilizado es la escisión quirúrgica tumoral con láser de CO₂ y se debe contar con un ambiente que tenga agua de buena calidad, con temperaturas entre 23-27°C, nutrición apta según especie y edad, fluidoterapia, manejo del dolor y tratamiento de infecciones secundaria y enfermedades concomitantes. Aun así, las opciones reales de tratamiento para los Herpesvirus (HVs) de reptiles son limitados y cuando hay la posibilidad, gran porcentaje de individuos mueren durante y post intervenciones quirúrgicas; por esta razón, la prevención enfocada en los detonadores ambientales de la enfermedad, es la herramienta más importante para evitar la presentación de los FPs ya que, una prevención basada en biológicos como la vacunación sigue siendo una tarea muy compleja.

Las tortugas al ser herbívoros se alimentan de algas y pastos marinos, al haber un detrimento de su población, se compromete su actividad de pastoreo, la cual es fundamental para mantener saludables las praderas marinas. Estos pastos tienen la capacidad de almacenar grandes cantidades de carbono, hasta 35 veces más que los bosques tropicales (Manes, et al, 2023), con la disminución de la población de tortugas, la salud de los pastos marinos y su capacidad de captación del carbono decrecería y aumentaría la concentración de este último en la atmósfera. Como consecuencia, se vería afectada (entre otros) la salud humana, incluyendo la mortalidad relacionada con las olas de calor y el incremento de las infecciones transmitidas por vectores. Demostrando así la naturaleza multifacética del problema y del alto nivel de interconexión entre los sistemas humanos y naturales (CHANS).

Bibliografía

Alfaro-Núñez, A., Frost, M., Miki, A., Rasmussen, I., Zepeda-Mendoza, L., Tange, M., Pius, M. (2014). Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles. *BMC Evolutionary Biology*, 14:260

Da Silva, C., Klein, R., Barcarolli, I., Bianchini, A. (2016). Metal contamination as a possible etiology of Fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. *Aquatic Toxicology*, 170: 42-51
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.007>

Deus Santos, M., Silva, A., Baptistotte, C., Work, T. (2015). Health condition of juvenile *Chelonia mydas* related to Fibropapillomatosis in southeast Brazil. *Diseases of aquatic organisms*. 115 (3), 193-201 doi:10.3354/dao02883

Domiciano, I., Broadhurst, M., Domit, C., Flaiban, K., Goldberg, D., Fritzen, J., Bracarense, A. (2019). Chelonid Alphaherpesvirus 5 DNA in Fibropapillomatosis-Affected *Chelonia mydas*. *Ecohealth*, 16(2), 248-259 doi:10.1007/s10393-019-01412-8

Duffy, D., Schnitzler, C., Karpinski, L., Thomas, R., Whilde, J., Eastman, C., Yang, C., Krstic, A., Rollinson, D., Zirkelbach, B., Yetsko, K., Burkhalter, B., Martindale, M. (2018). Sea turtle fibropapilloma tumors share genomic drivers and therapeutic vulnerabilities with human cancers. *Communications biology*, 1(1) doi:10.1038/s42003-018-0059-x

Dujon, A., Schofield, G., Venegas, R., Thomas, F., Ujvari, B. (2021). Sea Turtles in the Cancer Risk Landscape: A Global Meta-Analysis of Fibropapillomatosis Prevalence and Associated Risk Factors. *Pathogens*, 10(10), 1295; doi.org/10.3390/pathogens10101295

Garcês, A., Pires, I. (2022). Fibropapillomatosis in Sea Turtles, a Sentinel of Ecosystem Health? *Environmental sciences proceedings*. 24(1):1. <https://doi.org/10.3390/ECERPH-4-13096>

Hirama, S., Ehrhart, L., Rea, L., Kiltie, R. (2014). Relating fibropapilloma tumor severity to blood parameters in green turtles *Chelonia mydas*. *Diseases of aquatic organisms*. 111(1), 61-68 doi: 10.3354/dao02765

James, A., Page-Karjian, A., Charles, K., Edwards, J., Gregory, C., Cheetham, S., Buter, B., Marancik, D. (2021). Chelonid Alphaherpesvirus 5 Prevalence and First Confirmed Case of Sea Turtle Fibropapillomatosis in Grenada, West Indies. *Animals*. 11(6), 1490 <https://doi.org/10.3390/ani11061490>

Jones, K., Ariel, E., Burgess, G., Read, M. (2015). A review of Fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*). *The Veterinary Journal*. 212,48-57. doi:10.1016/j.tvjl.2015.10.041.

Manes, C., Pinton, D., Canestrelli, A., Capua I. (2022). Occurrence of Fibropapillomatosis in Green Turtles (*Chelonia mydas*) in Relation to Environmental Changes y Coastal Ecosystems in Texas and Florida: A Retrospective Study. *Animals*. 12(10),1236 doi.org/10.3390/ani12101236

Manes, C., Carthy, R., Hull, V. (2023). A Coupled Human and Natural Systems Framework to Characterize Emerging Infectious Diseases- The Case of Fibropapillomatosis in Marine Turtles. *Animals*. 13(9), 1441 doi.org/10.3390/ani13091441

Monezi, T., Mehnert, D., M.M de Moura, E., Müller, N., Garrafa, P., Matushima, E., Werneck, M., Borella, M. (2016). Chelonid herpesvirus 5 in secretions and tumor tissues from green turtles (*Chelonia mydas*) from Southeastern Brazil: A ten-year study. *Veterinary microbiology*, 186, 150-156 doi: 10.1016/j.vetmic.2016.02.020

Narita, F., Souza, M., Scardoeli, B., Neto, H., Coelho, C. (2021) Treatment of Fibropapillomatosis in a Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) Using Ultra-Diluted: Case Report. *Integr J Vet Biosci*. 5(3): 1–3. doi: 10.31038/IJVB.2021532

Okoh, R., Horwood, P., Whitmore, D., Ariel, E. (2021). Herpesviruses in reptiles. *Frontiers in Veterinary Science*. 8,642894 doi: 10.3389/fvets.2021.642894

Page-Karjian, A., Norton, T., Krimer, P., Groner, M., Nelson, S., Gottdenker, N. (2014). Factors influencing survivorship of rehabilitating green sea turtles (*Chelonia mydas*) with fibropapillomatosis. *Journal of Aquatic Animal Health*. 45(3): 507-519 <http://dx.doi.org/10.1638/2013-0132R1.1>

Page-Karjian, A., Gottdenker, N., Whitfield, J., Herbst, L., Norton, T., Ritchie, B. (2017). Potential Noncutaneous Sites of Chelonid Herpesvirus 5 Persistence and Shedding in Green Sea

Turtles *Chelonia Mydas*. *Journal of Aquatic Animal Health*. 29:3, 136-142

doi.org/10.1080/08997659.2017.1321590

Page-Karjian, A. (2019). Fibropapillomatosis in Marine Turtles. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy*. 9, 398-403. doi:10.1016/b978-0-323-55228-8.00057-6

Patrício, A., Diez, C., van Dam, R., Godley, B. (2016). Novel insights into the dynamics of green turtle Fibropapillomatosis. *Marine Ecology Progress series*. 547:247-255

Perrault, J., Stacy, N., Lehner, A., Mott, C., Hirsch, S., Gorham, J., Buchweitz, J., Brette, M., Walsh, C. (2017). Potential effects of brevetoxins and toxic elements on various health variables in Kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles after a red tide bloom event. *Science of the Total Environment*. 605-606, 967-979
doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.149

Perrault, J., Perkins, C., Ajemian, M., Brette, M., Mott, C., Page-Karjian, A. (2020). Harmful algal and cyanobacterial toxins in foraging green turtles (*Chelonia mydas*) in Florida's Big Bend. *Toxicon: X* 5(1) doi:10.1016/j.toxcx.2019.100020

Perrault, J., Levin, M., Mott, C., Boverly, C., Brette, M., Chabot, R., Gregory, C., Guertin, J., Hirsch, S., Ritchie, B., Weege, S., Welsh, R., Witherington, B., Page-Karjian, A. (2021). Insight on Immune Function in Free-Ranging Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) with and without Fibropapillomatosis. *Animals*. 11(3), 861 <https://doi.org/10.3390/ani11030861>

Reséndiz, E., Fernández, H., Espinoza, Joelly., Cedillo, C. (2022). Fibropapilomatosis en tortugas marinas: una visión de conjunto. *Revista de Investigaciones Marinas*. 42(1), 115-137.

Yetsko, K., Farrell, J., Blackburn, N., Whitmore, L., Stammnitz, M., Whilde, Eastman, C., Rollinson, D., Thomas, R., Krstic, A., Linser, P., Creer, S., Carvalho, G., Devlin, M., Nahvi, N., Leandro, A., deMaar, T., Burkhalter, B., Murchison, E., Schnitzler, C., Duffy, D. (2021).

Molecular characterization of a marine turtle tumor epizootic, profiling external, internal and postsurgical regrowth tumors. *Communications biology*, 4(1) doi:10.1038/s42003-021-01656-7

Zwarg, T., Rossi, S., Sanches, T., Cesar, M., Werneck, M., Matushima, E. (2014).

Hematological and histopathological evaluation of wildlife green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilloma from the north coast of São Paulo State, Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 34(7), 682-688.