

# CASO CLÍNICO: HERPESVIROSIS EN TORTUGA DE DESIERTO AMERICANA (*GOPHERUS AGASIZII*).

A. Martínez-Silvestre\*, N. Majó\*\*,  
A. Ramis\*\*

\*Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya (C.R.A.R.C.).

C/ Major 91-93.

08783 Masquefa (Barcelona).

\*\*Unitat d'Anatomia Patològica.

Facultat de Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona.

08193 Bellaterra.

## RESUMEN.

Se describe un caso de herpesvirosis sistémica en una tortuga de desierto americana. La identificación viral se realiza en cavidad nasal, bronquios, sacos aéreos, hígado y bazo. La afectación septicémica de las lesiones contrasta con los signos más localizados descritos hasta ahora de herpesvirosis en esta especie de tortuga. Histológicamente se describe una rinitis, hepatitis necrotizante, neumonía focal necrotizante y esplenitis. También se describen las características víricas observadas en hígado y cavidad nasal. Este caso representa la primera cita de esta enfermedad en una tortuga de esta especie en España, de modo que se remarcan las precauciones que se deben tomar ante la introducción de este tipo de enfermedades infectocontagiosas en colecciones zoológicas o centros de recuperación de fauna.

**Palabras clave:** Tortuga de desierto; *Gopherus agasizii*; Herpesvirus; Histopatología.

## ABSTRACT.

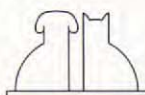
A case of herpesvirosis in a american desert tortoise (*Gopherus agasizii*) is presented. Viral identification is described in nasal cavity, aerian sacs, liver and spleen. In contrast with the local signs described to date in herpesvirosis, in our case a septicemic distribution is noted. Microscopically, a rhinitis, necrotizant hepatitis, focal pneumonia and esplenitis are the major signs observed. Viral characteristics in liver and nasal cavity are also exposed. This case is the first report of herpesvirosis in *Gopherus agasizii* in Spain. Profilactic measures are very important to prevent the introduction of this disease in Zoo Gardens or Wildlife Rehabilitation Centers.

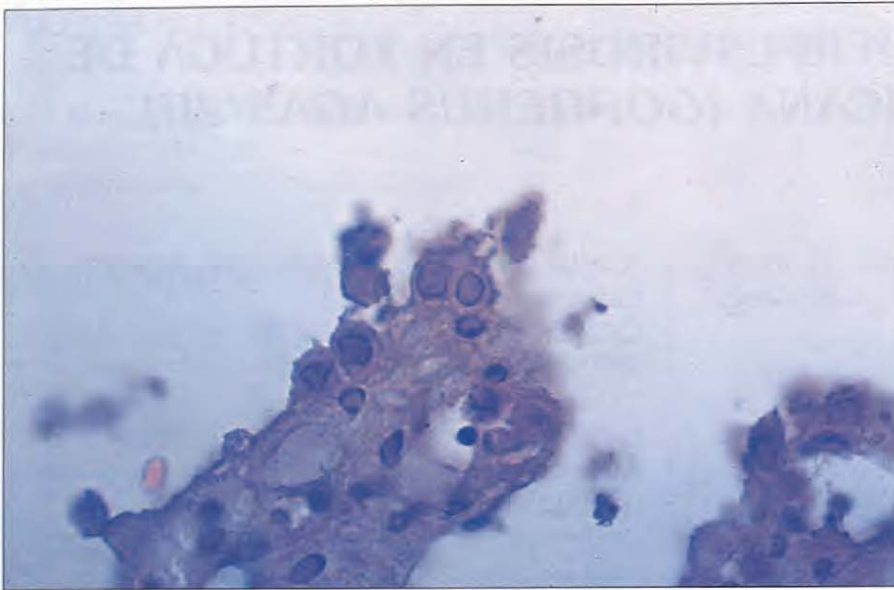
**Key words:** Desert tortoise; *Gopherus agasizii*; herpesvirus; Histopathology.

## INTRODUCCIÓN.

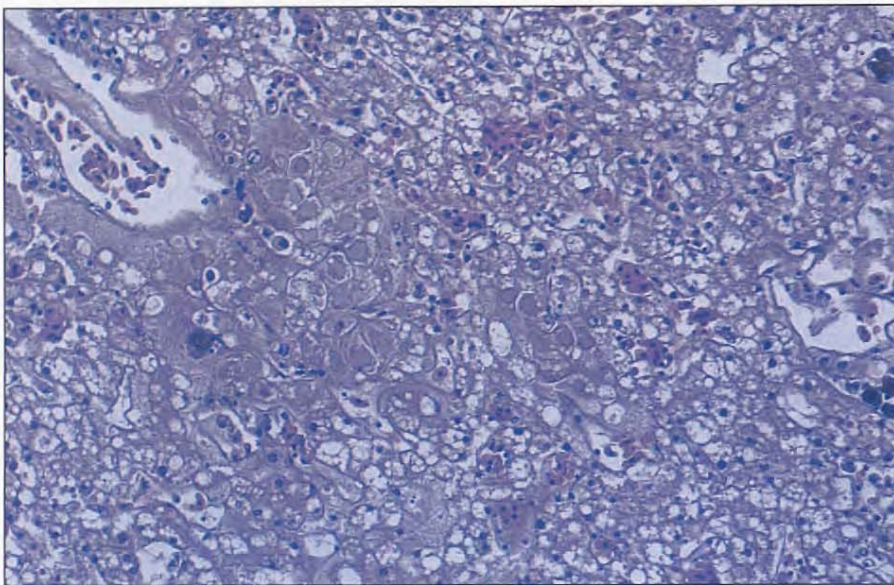
En quelonios, la infección por herpesvirus se asocia a un cuadro clínico predominantemente respiratorio, con una rinitis mucosa o mucopurulenta como principal síntoma (19). Como consecuencia de esta infección vírica también se han descrito lesiones cutáneas y oculares (11), respiratorias (19), orofaríngeas (20) e intestinales (17). Existen pocos casos descritos de lesiones sistémicas causadas por herpesvirus en tortugas (3, 11, 15).

En tortuga de desierto americana (*Gopherus agasizii*) la presencia de esta enfermedad ha sido descrita únicamente dentro del área de distribución de la misma (zonas cálidas del sur de Estados Unidos) (5, 18). Este caso constituye la primera descripción de la infección por herpesvirus en *Gopherus agasizii* fuera del área de distribución natural de la especie. Además, es la primera descripción de este proceso en esta especie en España, dado que no había sido descrito con anterioridad.





**Fig. 1.** Aspecto microscópico de las células epiteliales de la cavidad nasal (x 1000). Se aprecian los cuerpos de inclusión intranucleares de coloración amfófila. (Tinción Hematoxilina/Eosina).

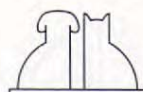


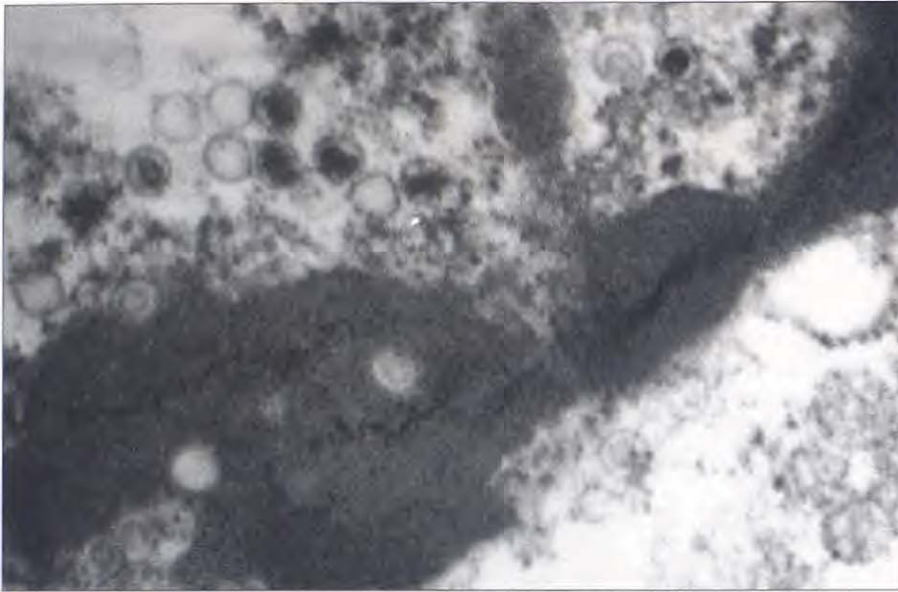
**Fig. 2.** Corte histológico del hígado. Se aprecian nuevamente los cuerpos de inclusión en el interior del núcleo de los hepatocitos. (x 1000, Hematoxilina/ Eosina).

## CASO CLÍNICO.

Se presentó un macho adulto de 22 cm de longitud y 960 g de peso de tortuga de desierto americana (*Gopherus agassizii*) para su hospitalización en el Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya (C.R.A.R.C.). Este animal estuvo anteriormente un año en un núcleo de reproducción que disponía aproximadamente de 300 tortugas más. En este núcleo era el único ejemplar de esta especie. Estaba sólo en una instalación de 3 m por 3 m con plantas autóctonas mediterráneas y sujeto a los cambios climáticos locales. Las condiciones de mantenimiento eran las propias para el correcto crecimiento de esta especie (8, 10,

25) y consistentes en una dieta variada a base de frutas, verduras y plantas silvestres, así como una instalación de exterior soleada y con abundante vegetación y refugios. Durante el anterior invierno el animal se aletargó siguiendo una pauta de hibernación similar a la de las tortugas autóctonas mediterráneas. Al poco tiempo de despertar del letargo empezó a manifestar síntomas de lagrimeo, descarga mucosa nasal, apatía e hiporexia. Se trató con fluidoterapia y activadores del metabolismo (complejo vitamínico B a dosis 25 mg/kg dosis única IM) pero el animal no parecía mejorar, por lo que se envió para su ingreso en el C.R.A.R.C. Aquí fue desparasitado con levamisol (10 mg/kg dosis única IP) de modo rutinario y,





**Fig. 3.** Imagen a microscopio electrónico de transmisión. Se observan los viriones hexagonales a ambos lados de la membrana nuclear y atravesándola. (x 40.000).

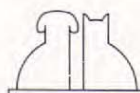
siguiendo pautas de tratamiento de rinitis en tortugas terrestres<sup>(20)</sup>, se le administró enrofloxacin intramuscular (a dosis de 5 mg/kg durante 12 días) combinada con instilaciones nasales de gentamicina y dexametasona para combatir los síntomas de infección de vías altas respiratorias. Se le administraron inicialmente fluidos intracelómicos (20 ml/kg de ringer lactato y suero glucosado al 5% mezclados al 50 %) pero al mantenerse la hospitalización se decidió practicar una fluidoterapia intraósea de 30 ml diarios con los mismos productos y proporciones. Estuvo hospitalizada en un terrario de vigilancia intensiva de 1,5 m por 1,5 m, con un foco de calor y de luz individual. Si bien cada día se le ofrecía alimento y se le retiraba el sobrante del día anterior, la tortuga no comió. El animal no mostró signos de mejoría en ningún momento y a los 12 días murió.

En la necropsia se observó palidez de mucosas nasales y coanas así como del parénquima hepático. No se observaron lesiones macroscópicas sugestivas de septicemia bacteriana. Se recogieron muestras de hígado, pulmón, riñón, intestino, así como la cabeza entera, que se incluyeron en formol al 10 %. Estas muestras se remitieron al Servicio de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona.

En el estudio histológico se observó una necrosis extensa del epitelio respiratorio de la cavidad nasal con desprendimiento de la mayoría de células epiteliales necróticas a la luz de la cavidad nasal. Estas células epiteliales presentaban marcada cariomegalia con marginación de la cromatina

y cuerpos de inclusión intranucleares amfófilos (Fig. 1). No se observaron células inflamatorias en la lámina propia subyacente. Se apreciaron también áreas de necrosis de células epiteliales en bronquios y sacos aéreos pulmonares. Las células epiteliales presentaban también una marcada cariomegalia con marginación de la cromatina y presencia de cuerpos de inclusión intranucleares. En la luz de algunos sacos aéreos se observaron células multinucleadas que contenían gran cantidad de núcleos con cuerpos de inclusión intranucleares amfófilos. Por otra parte, en el hígado se observaron áreas multifocales de necrosis coagulativa de hepatocitos asociada, al igual que en otros órganos, a la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares (Fig. 2). El bazo presentaba necrosis de células endoteliales de las arteriolas terminales de la pulpa blanca y de algunas células reticulares periarteriolas. La gran mayoría de las células esplénicas presentaban intensa cariomegalia y presencia del mismo tipo de cuerpos de inclusión intranucleares que los observados en el resto de órganos.

Dadas las lesiones histológicas observadas se creyó conveniente realizar un estudio ultraestructural. Para llevar a cabo este estudio se recogieron muestras de cavidad nasal e hígado que se procesaron según protocolos convencionales de microscopía electrónica. La observación al microscopio electrónico permitió confirmar la presencia de partículas víricas en el interior del núcleo de las células epiteliales del cornete nasal y en hepatocitos. Estas partículas presentaban una nucleocápsida de morfología icosaédrica y un



tamaño de 100 a 120 nm. La mayoría de viriones estaban dentro del núcleo y algunos pudieron observarse atravesando la membrana nuclear y localizándose en el citoplasma (Fig. 3). En función de la morfología, del tamaño y del cuadro celular lesional, dichas partículas se identificaron como herpesvirus.

## DISCUSIÓN.

La infección por herpesvirus es un hecho relativamente frecuente, tanto en quelonios acuáticos (3, 24) y marinos (11), como en terrestres (6, 17). En la especie tratada, *Gopherus agassizii*, se han descrito casos principalmente en colecciones zoológicas de Estados Unidos (5, 21), donde esta especie pertenece a la fauna autóctona.

Las infecciones por herpesvirus descritas en *Gopherus agassizii* mencionan lesiones histológicas idénticas a las descritas en nuestro caso en boca y lengua (21), faringe (5) y aparato respiratorio (21, 22). En el presente caso, el cuadro lesional es mucho más amplio puesto que se ha detectado la presencia de cuerpos de inclusión víricos en cavidad nasal, bronquios, sacos aéreos, hígado y bazo. Tal y como se ha propuesto en otras enfermedades víricas descritas en la misma especie aquí citada (26) y otras especies de quelonios (17, 19, 24), este hecho podría responder a una diseminación de un proceso más localizado en un animal debilitado, inmunodeprimido o con una enfermedad instaurada de un modo crónico. Tanto el estrés del transporte como la adaptación a un nuevo entorno como la hibernación representan factores inmunosupresores descritos en reptiles con posibles repercusiones en infecciones primarias u oportunistas (14). Aunque esta especie de tortuga puede realizar hibernaciones en su zona de origen (4), nunca son tan duraderas como en el Mediterráneo. Es posible suponer que la hibernación, unida al periodo de adaptación del animal a las nuevas instalaciones, repercutiera de un modo decisivo en la manifestación final de la enfermedad en un animal que ya traía el agente viral consigo en fase latente al ingresar en este núcleo de cría.

Cabe destacar que el diagnóstico y tratamiento de sintomatología respiratoria en *Gopherus agassizii* habitualmente va dirigido a bacterias o micoplasmas y no a un posible agente viral, dado que la rinitis en tortuga de desierto americana se asocia generalmente a la presencia de micoplasmas (16). La infección por micoplasmas cursa con lagrimeo,

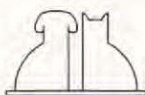
exudado nasal mucoso que progresa a mucopurulento y muerte del animal. Histológicamente, la micoplasmosis cursa con un cuadro lesional caracterizado por una respuesta celular de tipo proliferativo, con presencia de infiltrado difuso linfocitario, heterófilos y macrófagos (18). La detección *in vivo* de esta enfermedad sólo se ha conseguido mediante el empleo de técnicas ELISA de detección de anticuerpos antimicoplasmas en plasma de las tortugas afectadas (23). Por otro lado, la presencia de bacterias acompañantes en procesos de rinitis es un hecho constante debido a la alta población microbiana ambiental y a la debilidad preexistente de la tortuga ya enferma (20).

La descripción del presente caso hace aconsejable que la infección por herpesvirus deba incluirse de modo rutinario en el diagnóstico diferencial de las rinitis en tortugas de desierto americanas.

La realización de cuarentenas es una práctica común en la mayoría de entidades zoológicas. Aun así, la detección y análisis de enfermedades de origen vírico requiere unas técnicas y un tipo de muestreo que no se practican en la mayoría de estas entidades. En circunstancias de ausencia de sistemas de detección fiable de la etiología de la rinitis, siempre se recomienda el tratamiento con antibióticos bactericidas y antimicoplásmicos como la tilosina o la enrofloxacin (13), combinados con tratamientos locales a nivel de las vías altas respiratorias para combatir la población bacteriana oportunista que agrava el cuadro clínico. En ningún caso se plantea un tratamiento antivírico o inmunoestimulante, por lo que infecciones víricas como la presente pueden pasar desapercibidas.

Se desconoce si existió un contagio del agente causal a otras tortugas de la misma instalación, pero dado que la herpesvirosis suele ser especie-específica (22, 24) y que los síntomas de mucosidades nasales no son patognomónicos de herpesvirus sino comunes a varias enfermedades respiratorias (2, 20), podría descartarse *a priori* esa posibilidad. De hecho, ni antes ni después de la muerte de la tortuga se ha diagnosticado herpesvirosis en las demás tortugas del núcleo reproductor.

La herpesvirosis en quelonios es una enfermedad de elevado riesgo de transmisión, elevada morbilidad y elevada mortalidad, por lo que se ha planteado como un grave problema para las entidades que se encargan de la conservación de los quelonios (1, 7, 15). Las cuarentenas deberían ser no menores de 30 días y en ellas se deberían recoger el máximo número de muestras, incluyendo heces para su análisis coprológico, orina y sangre (9).



Debería guardarse asimismo una muestra de plasma congelado de cada animal para poder monitorizar al cabo del tiempo el estado en que entró el animal al centro (si era portador o no) (12). Sólo mediante controles serológicos se podrían prevenir graves problemas en instalaciones dedicadas a la cría o mantenimiento de un gran número de ejemplares.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Blahak S. Herpesvirus infection in land tortoises as a problem of chelonian conservation. International Congress of Chelonian Conservation 1995; 240-243.
2. Cooper JE, Gschmeisser S, and Bone RD. Herpes-like virus pasticles in necrotic stomatitis of tortoises. *The veterinary record*. 1988; 123: 544.
3. Frye F, Oshiro LS, Dutra F, and Carney JD. Herpesvirus-like infection in two pacific pond turtles. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1977; 171: 882-883.
4. Gourley EV. Circadian activity rhythm of the gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*). *Animal Behaviour* 1972; 20: 13-20.
5. Harper PAW, Hammond DC, Heuschele WP. A herpesvirus-like agent associated with a pharyngeal abscess in a desert tortoise. *Journal of Wildlife Disease*. 1982; 18(4): 491-494.
6. Heldstab A, Bestetti G. Herpesviridae causing glossitis and meningoencephalitis in land tortoises (*Testudo hermanni*). *Herpetopathologia*. 1989; 1: 5-10.
7. Highfield AC. Casual factors of mortality in captive collections. *Testudo* 1987; 2(5): 15-17.
8. Highfield AC. Notes on the dietary constituents for herbivorous terrestrial chelonians and their effect on growth and development. *ASRAJ*. 1990; 3(3): 7-19.
9. Highfield AC. Fatal tortoise epidemics. *Tortoise trust newsletter* 1991; 10-14.
10. Jackson CG, Trotter TH, Trotter JA, Trotter MW. Further observations of growth and sexual maturity in captive desert tortoises (Reptilia: testudines). *Herpetologica* 1978; 34(2): 225-227.
11. Jacobson ER. Viruses and viral associated diseases of reptiles. *Acta zoologica et pathologica antuerpiensia* 1986; 79:73-90.
12. Jacobson ER. Viral diseases of reptiles. En: *Journal of Zoo and Wild Animal Medicine*, edited by M.E. Fowler. Saunders Company, Philadelphia. 1993; 153-159.
13. Jacobson ER. Implications of infectious diseases for captive propagation and introduction programs of threatened/endangered reptiles. *Journal of Zoo and Wild Animal Medicine*. 1993; september: 245-255.
14. Jacobson ER. Causes of mortality and diseases in tortoises: a review. *Journal of Zoo and Wild Animal Medicine* 1994; 25(1): 2-17.

## AGRADECIMIENTOS.

Los autores desean agradecer a X. Capalleres (Centre de Reproducció de Tortugues de l'Albera) y J. Soler (Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya, C.R.A.R.C.) la abierta colaboración prestada en el seguimiento del animal y redacción del presente artículo.

15. Jacobson ER. Health problems of tortoises and marine turtles. International Congress of Chelonian Conservation. 1995; 325-328.
16. Jacobson ER, Brown MB, Schumacher IM, Collins BR, Harris RK, Klein PA. Mycoplasmosis and the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) in Las Vegas Valley, Nevada. *Chelonian Conservation and Biology* 1995; 1(4): 279-284.
17. Jacobson ER, Clubb S, Gaskin JM, Gardiner CH. Herpesvirus-like infection in Argentine tortoises. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1985; 187(11): 1227-1229.
18. Jacobson ER, Gaskin JM, Brown MB, Harris RK, Gardiner CH, LaPointe JL, Adams HP, Reggiardo C. Chronic upper respiratory tract disease of free-ranging desert tortoises (*Xerobates agassizii*). *Journal of Wildlife Diseases* 1991; 27(2): 296-316.
19. Jacobson ER, Gaskin JM, Roelke M, Greiner EC, Allen J. Conjunctivitis, tracheitis, and pneumonia associated with herpesvirus infection in green sea turtles. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1986; 189(9): 192-203.
20. Martínez Silvestre A, Mateu E. Bacteriological features of rhinitis in Captive Greek tortoises, *Testudo graeca*. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians* 1997; 7(2): 12-15.
21. Pettan-Brewer KCB, Drew ML, Ramsay E, Mohr FC, Lowenstine L. Herpesvirus particles associated with oral and respiratory lesions in a California desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Journal of Wildlife Diseases*. 1996; 32(3): 521-526.
22. Ramsay E, and Lowenstine L. Herpesvirus-like particles associated with respiratory disease in a California desert tortoise (*Xerobates agassizii*). *Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians*. 1991; 157-158.
23. Schumacher IM, Brown MB, Jacobson ER, Collins BR, Klein PA. Detection of antibodies to a pathogenic Mycoplasma in Desert Tortoises (*Gopherus agassizii*) with upper respiratory tract disease. *Journal of clinical microbiology* 1993; 31(6): 1454-1460.
24. Schumacher J. Viral diseases. In: *Reptile medicine and surgery*, edited by D.R. Mader 1996; 224-234. Saunders company, Philadelphia.
25. Turner FB, Medica PA, Bury RB. Age-size relationships of desert tortoises (*Gopherus agassizii*) in southern Nevada. *Copeia* 1988; 4: 974-979.
26. Westhouse RA, Jacobson ER, Harris RK, Winter KR, Homer BL. Respiratory and pharyngo-esophageal iridovirus infection in a Gopher Tortoise (*Gopherus polyphemus*). *Journal of Wildlife Diseases* 1996; 32(4): 682-686.

