

Infección por herpesvirus en tortugas mediterráneas

ANTONIO J. RAMIS

Departamento de Medicina y Cirugía. Facultad de Veterinaria
Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra, Barcelona

Resumen. La infección por herpesvirus en tortugas terrestres es una enfermedad que afecta especialmente a las vías respiratorias altas. Está descrita en diferentes especies de tortugas, incluidas *Testudo graeca* y *Testudo hermanni*, que forman parte de la población salvaje de la cuenca mediterránea. En este trabajo se realiza una revisión de los diferentes aspectos de la enfermedad haciéndose especial hincapié en la epidemiología y el diagnóstico del proceso.

Palabras clave: Tortuga; Herpesvirus; Rinitis.

Introducción

Bajo la denominación de complejo rinitis-estomatitis de las tortugas terrestres, también conocida como URTD (*Upper respiratory tract disease*) en la bibliografía anglosajona, se incluyen una serie de procesos patológicos de etiología muy variada (acción de sustancias irritantes, infecciones bacterianas asociadas a hipovitaminosis A, infección por micoplasmas...) que una exploración clínica poco exhaustiva puede inducir a confundirlos con la infección por herpesvirus⁽⁴⁾. No obstante el cuadro lesional macro y microscópico y la evolución de este proceso son suficientemente característicos para estudiarlo como una entidad independiente; se trata de una enfermedad de etiología vírica, producida por un herpesvirus y descrita en diferentes especies de tortugas terrestres, incluidas *Testudo graeca* y *Testudo hermanni*, que forman parte de la población salvaje de la cuenca mediterránea⁽²⁸⁾.

En 1982 Harper realizó la primera descripción rigurosa (historia clínica documentada, observación de las lesiones microscópicas patognomónicas y detección, mediante técnicas de microscopía electrónica de transmisión, de partículas víricas con una morfología y tamaño compatibles con herpesvirus) de la enfermedad, en una tortuga del desierto americana (*Gopherus agassizii*). Poco tiempo después, en 1985, Jacobson *et*

al. describieron el mismo proceso en tortugas argentinas (*Geochelone chilensis*). Finalmente, en 1988, Cooper *et al.* describieron la infección en una especie del continente europeo (*T. graeca*). A partir de esta fecha numerosos autores^(5,8,18,19,29) han descrito la enfermedad en muy diversas especies de tortugas terrestres: *T. hermanni*, *Testudo marginata*, *Agrionemys horsfieldii*, *Malacochersus tornieri*, *Geochelone elongata* y *Geochelone pardalis*. Por otra parte han demostrado^(13,18,24,25) la presencia de inclusiones víricas en tejidos de la cavidad nasal u oral de los animales afectados y en otros órganos no asociados a éstas (pulmón, hígado, intestino, riñón, bazo y sistema nervioso central) lo que justificaría que, en algunos casos, la enfermedad se manifieste con diferentes síntomas además de la rinitis y estomatitis características.

A pesar de todo, no se había conseguido el aislamiento del agente etiológico hasta que en 1994, con poco tiempo de diferencia Biermann y Blahak por una parte y Kabisch y Frost por otra consiguieron aislar el virus a partir de diferentes órganos de *T. hermanni* y *A. horsfieldii* infectadas, en cultivos de células de miocárdicas de tortuga (THC). No obstante, todavía no se han conseguido completar los postulados de Koch para esta infección vírica y por otra parte los conocimientos acerca de su etiología, patogenia, epidemiología y posible tratamiento son escasos^(9,21,22,23).



Etiología

Los miembros de la familia *Herpesviridae* son virus ADN de cadena doble, con un diámetro aproximado de 100 -150 nm. Su cápside presenta una morfología icosaédrica con 162 capsómeros delimitados por una envoltura externa. La replicación tiene lugar en el interior del núcleo de las células diana, posteriormente pasan al citoplasma adquiriendo la envoltura lipídica a partir de la membrana nuclear. Los lugares de replicación intranuclear a menudo se manifiestan como inclusiones intranucleares y son visibles mediante microscopía óptica ^(28,31).

Muchos herpesvirus son capaces de dar lugar a infecciones subclínicas que bajo determinadas circunstancias pueden activarse y dar lugar a una infección activa; los animales con infecciones subclínicas son portadores del virus aunque no manifiesten la enfermedad y son capaces de transmitirla a otros individuos. Los herpesvirus, por otra parte, pueden dar lugar a infecciones latentes, que podríamos definir como aquellas en que el genoma vírico está presente, pero su expresión genética se encuentra limitada y no existe formación de nuevas partículas víricas. Las infecciones latentes también pueden activarse bajo determinadas condiciones y dar lugar a una infección activa. Los animales con infecciones latentes no manifiestan la enfermedad y no la transmiten a otros individuos mientras no se reactive la infección ⁽¹⁾.

Existen muchos aislados de herpesvirus de quelonios procedentes de tortugas mediterráneas con cuadros de rinitis-estomatitis, aunque la mayoría todavía no han sido estudiados en profundidad y no está clara la relación antigénica existente entre ellos. En algunos trabajos, mediante la utilización de enzimas de restricción, se ha demostrado que estos herpesvirus no están relacionados en absoluto con los estudiados en algunas especies de salmónidos ⁽¹²⁾, con herpesvirus aviáres, como el de la enfermedad de Pacheco y el de la peste de los patos ⁽²¹⁾, ni tampoco con herpesvirus de mamíferos ⁽³⁰⁾. Finalmente, se sabe que los patrones de restricción de algunos aislados individuales de la enfermedad estudiados son diferentes entre sí, aunque se desconoce si estas diferencias pueden afectar a sus propiedades antigénicas ⁽²¹⁾.

Epidemiología y patogenia

Se trata de una enfermedad de distribución universal que desde su primera descripción en una tortuga del desierto americana (*G. agassizii*) ⁽¹¹⁾ se ha ido observando en otras especies y en diferentes localizaciones

geográficas por lo que, mientras no se demuestre lo contrario, todas las tortugas terrestres deberían ser consideradas como susceptibles de padecerla ⁽²⁸⁾. No obstante, según ciertos autores ^(9,16,22), algunas especies (*Geochelone carbonaria*, *T. graeca*), aunque son susceptibles a la infección, parecen ser más resistentes al desarrollo de la enfermedad.

Este proceso se ha descrito siempre en colecciones privadas y no existe información acerca de la prevalencia de la enfermedad en poblaciones salvajes ⁽²⁸⁾.

No se conoce con detalle la vía de infección pero teniendo en cuenta la información existente acerca de los herpesvirus en otras especies animales, parece lógico pensar que la vía habitual de contagio es la transmisión directa de animal a animal por medio de secreciones: algunos autores han postulado que en los animales infectados existe una eliminación más o menos constante de virus a partir de las cavidades oral y nasal, mientras que la eliminación conjuntival o cloacal es de tipo intermitente ^(19,22). Por otra parte, se desconoce cuánto tiempo puede permanecer viable el virus en el medio ambiente ⁽²⁸⁾. Finalmente, aunque no se ha demostrado, algunos autores plantean la posibilidad de transmisión vertical ⁽²⁵⁾.

Un problema adicional en el estudio de la dinámica de la enfermedad es la posible existencia de individuos portadores inaparentes (animales con infecciones subclínicas o con infecciones latentes), que no ha podido ser demostrada, dado que no existen métodos fiables para identificar estos animales ⁽²¹⁾. No obstante, de la observación de la evolución de algunos brotes, se puede sospechar la existencia de portadores y que hay especies con mayor tendencia a convertirse en portadores inaparentes. Un ejemplo de esto lo constituye un brote de la enfermedad acontecido en una colección mixta de *T. hermanni* y *T. graeca*, posteriormente a la introducción de un ejemplar de *T. graeca* clínicamente sano: se pudo demostrar que este animal era eliminador de virus y que presentaba una elevada tasa de anticuerpos específicos, a pesar de no manifestar síntomas; además, se pudo observar que los ejemplares de *T. graeca* de la colección no enfermaban ni presentaban bajas, mientras que los ejemplares de *T. hermanni* sí; y que en el conjunto total de la población superviviente y clínicamente sana, la mayoría de *T. hermanni* seguían eliminando virus y no presentaban anticuerpos neutralizantes específicos, mientras que la mayoría de *T. graeca* no eliminaban virus aunque presentaban elevados niveles de anticuerpos neutralizantes. Todo esto hace pensar que *T. graeca* tiene una especial predisposición para defenderse de la enfermedad, convirtiéndose en



portador inaparente del virus ⁽²²⁾. Por lo tanto, es poco recomendable el establecimiento de colecciones mixtas, especialmente si incluyen *T. graeca*.

En cuanto a la patogenia del proceso existe muy poca información contrastada. Aunque este proceso afecta mayoritariamente a las vías digestivas y respiratorias altas, el que se hayan descrito casos con inclusiones víricas intranucleares en células de diferentes órganos de los animales afectados (pulmón, hígado, intestino, riñón, bazo, testículo y sistema nervioso central) ^(13,18,24,25) hace pensar que se trata de una enfermedad que cursa con viremia ⁽²⁵⁾. En 1997, Marschang *et al*, consiguieron aislar por primera vez el virus a partir de leucocitos de sangre periférica, lo que demuestra que el virus penetra en el torrente circulatorio durante la infección y que éste podría ser el medio de difusión del virus a los diferentes órganos durante la infección.

Cuadro clínico y lesional

Los animales afectados presentan una sintomatología muy inespecífica: disnea, de intensidad variable en función de la gravedad de las lesiones de la cavidad orofaríngea, anorexia y secreción oculonasal. No obstante, en muchas ocasiones es fácilmente observable una conjuntivitis, así como estomatitis, glositis y faringitis fibrinonecrotizantes características del proceso ⁽³²⁾ (Fig. 1). Excepcionalmente se han descrito casos de incoordinación y ataxia debido a la afección del sistema nervioso central ^(13,15). No hay datos muy fiables acerca del índice de mortalidad y morbilidad pero existe un acuerdo general en que este suele ser elevado y que varía según las especies ⁽²¹⁾.

En la necropsia se suelen observar lesiones fibrinonecrotizantes en la mucosa oral, alrededor de la glotis, la faringe, y el techo del paladar, así como en la lengua y en la cavidad nasal ⁽³²⁾; aunque no es lo más frecuente, estas lesiones se pueden extender a las vías respiratorias bajas (tráquea y pulmón) ⁽²⁹⁾ y/o digestivas (intestino) ⁽¹⁹⁾. En el resto de órganos no existen lesiones macroscópicas específicas, pero es habitual la observación de atrofia serosa y esteatosis hepática ⁽³²⁾ y, en algunos casos, bronconeumonías bacterianas asociadas a la infección vírica ⁽²⁹⁾.

Las lesiones microscópicas en las diferentes mucosas afectadas (cavidad oral, cavidad nasal, lengua, faringe) son muy similares. En la lámina epitelial, generalmente se observa una hiperplasia que progresivamente da lugar a formación de vesículas en el estra-

to espinoso, así como necrosis y descamación de las capas epiteliales superficiales con formación de pseudomembranas, compuestas por restos de epitelio necrótico, granulocitos, hematíes y colonias bacterianas; también se pueden observar células epiteliales y sincitios con inclusiones intranucleares eosinófilas ⁽²⁹⁾ (Fig. 3). En otras ocasiones, el epitelio aparece substituido por amplias áreas de material necrótico y fibrina, entre los cuales se pueden detectar abundantes colonias bacterianas y restos de células epiteliales y sincitios con las inclusiones características ⁽¹³⁾ (Fig. 4). En la lámina propia y la submucosa, existen células inflamatorias en cantidad y características muy variables: en las fases iniciales suele observarse un infiltrado inflamatorio de tipo mixto, asociado a los vasos de la submucosa; mientras que en fases más avanzadas, el infiltrado ocupa gran parte de la lámina propia, aparece asociado a las zonas de ulceración epitelial y esta compuesto mayoritariamente por células polinucleares, restos de material necrótico y acúmulos de colonias bacterianas ⁽¹¹⁾.

También es frecuente la observación de lesiones focales necróticas, sin infiltrado inflamatorio asociado e inclusiones intranucleares eosinófilas, en células de diferentes tejidos no asociados al tracto digestivo o respiratorio ^(13,18,24,25): células hepáticas (Fig. 5), células endoteliales de los capilares glomerulares y epitelio tubular renal (Fig. 6), linfocitos y células musculares lisas de arterias trabeculares del bazo (Fig. 7), y neuronas células gliales y ependimarias del diencefalo y la médula oblonga.

En el estudio ultraestructural de las células que presentan inclusiones intranucleares eosinófilas en los diferentes tejidos se demuestra la presencia de partículas víricas de localización intranuclear e intracitoplasmática. Las partículas víricas intranucleares presentan un diámetro medio de 110 nm, morfología icosaédrica, carecen de envoltura lipídica y se localizan en el nucleoplasma sin un patrón de distribución concreto. Las partículas intracitoplasmáticas son morfológicamente similares pero presentan una envoltura lipídica y su diámetro es mayor (150 nm.) ^(11,13,16,27).

Diagnóstico

Desgraciadamente, en caso de que no exista un cuadro clínico y lesional evidentes, el único diagnóstico totalmente fiable pasa por la realización de necropsia y los estudios virológicos e histopatológicos consiguientes ⁽²¹⁾. No obstante, existen diferentes técnicas





Fig. 1. *Testudo graeca*. Conjuntivitis y glositis fibrinonecrotizantes. En el interior de la cavidad oral se observan abundantes flecos de fibrina recubriendo la parte dorsal de la lengua.



Fig. 2. *Testudo graeca*. En la necropsia se puede observar una intensa reacción inflamatoria fibrinonecrotizante en la cara dorsal de la lengua, techo del paladar y cavidad faríngea.

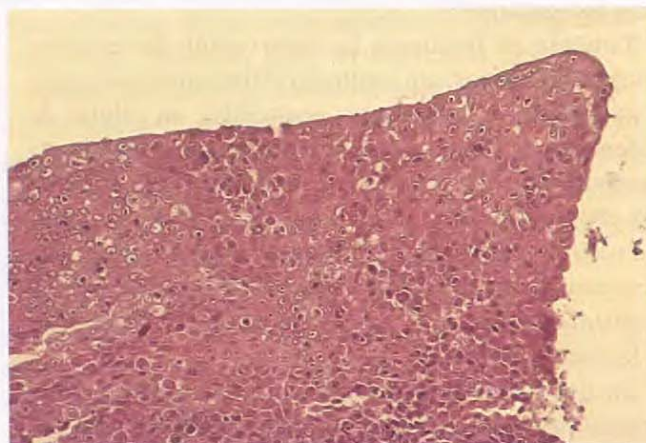


Fig. 3. Lengua. Epitelio lingual. Hiperplasia epitelial y necrosis de algunas células aisladas. Se observan abundantes células epiteliales con inclusiones intranucleares eosinófilas. Tinción de hematoxilina-eosina (x 200).

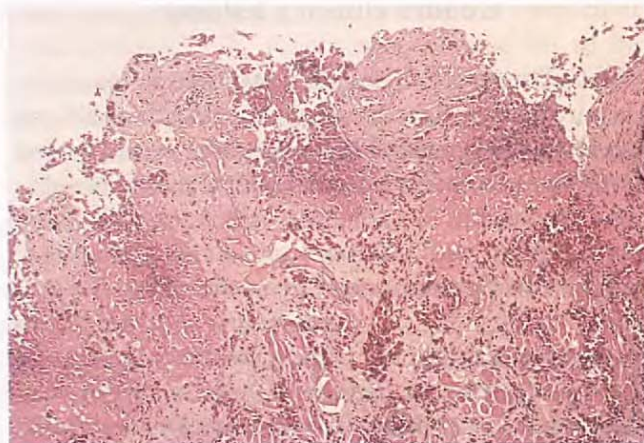


Fig. 4. Lengua. Epitelio lingual. Intensa necrosis de la lámina epitelial que presenta amplias áreas de ulceración. En la lámina propia se observan áreas focales hemorrágicas y un discreto infiltrado inflamatorio. Tinción de hematoxilina-eosina (x 100).

diagnósticas aplicables a animales vivos aunque una interpretación no adecuada de éstas puede conducir a errores diagnósticos graves. Las más utilizadas son: estudios citológicos de improntas de lengua, detección de partículas víricas en exudados o contenido fecal mediante microscopía electrónica (tinciones negativas), técnicas de seroneutralización vírica, y técnicas de aislamiento vírico a partir de exudado nasal, oral, conjuntival o contenido cloacal.

En las improntas de lengua de animales afectados es

posible observar células epiteliales con inclusiones intranucleares eosinófilas y/o sincitios (Fig. 8) aunque la no detección de estas inclusiones no permite descartar en absoluto la enfermedad ^(10,25). Es un método fácil, rápido y barato, pero es muy poco fiable: se ha de pensar que sólo se evalúa una pequeña cantidad de células del epitelio lingual y que no todos los animales enfermos, aunque presenten lesiones microscópicas características de la enfermedad, presentan inclusiones en las células epiteliales ⁽²²⁾. La detección de partículas víri-

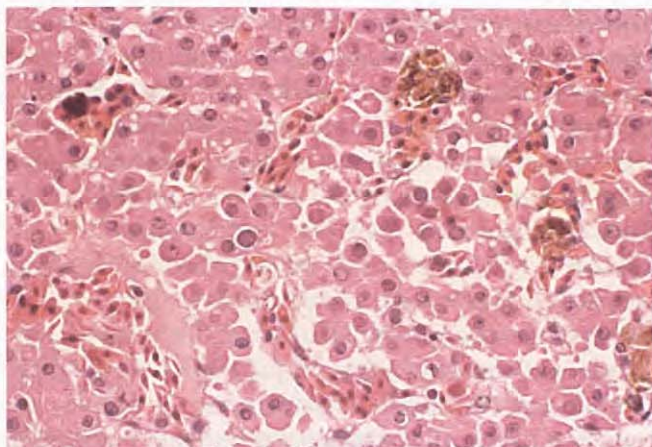


Fig. 5. Hígado. Se observa un área focal de necrosis sin infiltrado inflamatorio asociado. Algunos hepatocitos presentan inclusiones intranucleares eosinófilas. Tinción de hematoxilina-eosina (x 400).

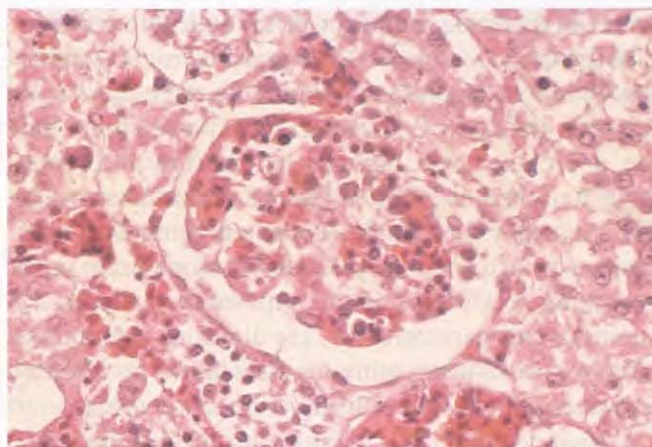


Fig. 6. Riñón. Corpúsculo renal. Inclusiones intranucleares eosinófilas en células glomerulares no identificadas. Los túbulos contorneados asociados al corpúsculo renal presentan una intensa necrosis del epitelio tubular en el que se pueden observar algunas inclusiones intranucleares eosinófilas. Tinción de hematoxilina-eosina (x 400)

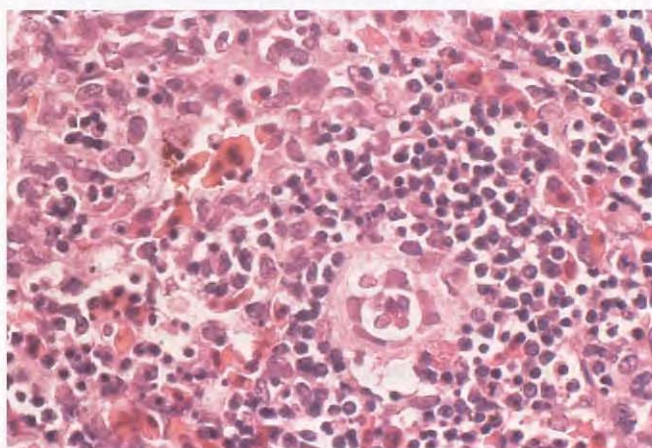


Fig. 7. Bazo. Pulpa blanca. Áreas focales de necrosis y depleción linfocitaria con presencia de inclusiones intranucleares eosinófilas en células mononucleares. También se observan inclusiones intranucleares eosinófilas en fibras musculares lisas y endotelio de la arteriola cental. Tinción de hematoxilina-eosina (x 400)

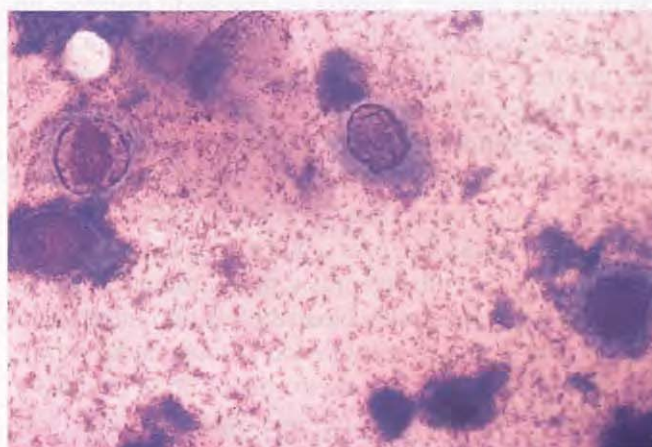


Fig. 8. Impronta de superficie lingual. Se observan células epiteliales descamadas con inclusiones intranucleares eosinófilas. Tinción de Diff-Quick (x1000)

cas mediante técnicas de microscopía electrónica (tinciones negativas) a partir de exudado nasal, oral, conjuntival o contenido cloacal ⁽⁸⁾ además de ser un sistema complejo y caro, presenta inconvenientes similares al de las improntas linguales: la observación de los virus dependerá de que el animal esté eliminándolos en el momento de la toma de la muestra, y aun en este caso, no existe ninguna garantía de que la muestra evaluada sea representativa.

Con técnicas de seroneutralización vírica, se detecta la presencia de anticuerpos neutralizantes específicos para el herpesvirus causante de la enfermedad ⁽⁹⁾. Este método, como todos los métodos indirectos, presenta el inconveniente de que no detecta agente etiológico sino que se diagnostica la enfermedad mediante la demostración de la presencia de anticuerpos específicos contra éste. En el caso de la enfermedad que nos ocupa, existen dos problemas adicionales: no hay información



conocida acerca de la cinética de los anticuerpos durante la infección y el periodo de convalecencia, y no se conoce la relación antigénica entre las diferentes cepas del virus aisladas ⁽²¹⁾. En relación con esto último hay que decir que, para algunos autores, las diferentes cepas del virus aisladas en Europa están íntimamente relacionadas y presentan una elevada semejanza antigénica con lo que en las pruebas de seroneutralización es suficiente la utilización de una sola cepa vírica ⁽⁹⁾; mientras que para otros ⁽³⁾, las elevadas diferencias antigénicas existentes entre los aislados de los diferentes brotes obligarían a utilizar varias cepas víricas.

A pesar de todos estos inconvenientes, las técnicas de seroneutralización vírica proporcionan una información mucho más valiosa que las dos anteriores, especialmente en el caso de colecciones. Aunque no se pueda establecer una relación directa entre la positividad de estas pruebas e infección vírica, se debe tener en cuenta que los animales positivos pueden corresponder a portadores inaparentes que bajo ciertas condiciones podrían llegar a eliminar virus en grandes cantidades. De la misma manera, aunque un resultado negativo no sirva para descartar totalmente la infección, para algunos autores dos pruebas negativas separadas por un periodo de 6 semanas permiten descartarla ⁽⁹⁾.

El aislamiento del agente etiológico en cultivos de células miocárdicas de tortuga (THC), es la técnica diagnóstica más específica. En los animales infectados existe una eliminación más o menos constante de virus a partir de las cavidades oral y nasal, mientras que la eliminación conjuntival o cloacal es de tipo intermitente ^(19,22) por lo que se recomienda la toma de muestras, mediante hisopo, a partir de exudados de la cavidad y faríngea ⁽²²⁾. A pesar de su elevada especificidad, la técnica del aislamiento vírico no es capaz de detectar animales seropositivos que no estén eliminando virus en el momento de la toma de muestras.

Podemos, por lo tanto, decir que ni las pruebas serológicas ni el aislamiento vírico aisladamente permiten descartar la presencia del agente etiológico de la enfermedad en una determinada colección: se puede dar el caso de animales seronegativos que estén eliminando virus, y también animales que no eliminen virus en el momento de muestreo y que presenten una elevada tasa de anticuerpos que los hace sospechosos de ser portadores inaparentes. Generalmente, en las cuarentenas previas a la introducción de nuevos animales en una colección, se recomienda la utilización simultánea de pruebas serológicas y aislamiento vírico ⁽²²⁾.

En cuanto al diagnóstico diferencial, independientemente de procesos más o menos banales (infecciones

bacterianas secundarias a hipovitaminosis, acción de agentes irritantes...), en quelonios existen dos infecciones graves que cursan con rinitis y estomatitis: la infección por iridovirus y la infección por micoplasmas.

La infección por iridovirus es un proceso poco conocido, del que hasta ahora sólo existían descripciones de casos esporádicos en *T. graeca* ⁽¹⁴⁾, *T. hermanni* ⁽²⁶⁾ y *G. agasizii* ⁽³⁴⁾ y del que recientemente se ha diagnosticado un brote en *T. hermanni*, consiguiéndose aislar y caracterizar el agente etiológico ⁽²⁰⁾. El cuadro clínico y lesional es similar al de la infección por herpesvirus aunque en los pocos casos que se han descrito, no sólo se circunscribe a la cavidad oral y nasal sino que se extiende al resto del tracto respiratorio y/o digestivo ^(14,20,26). Las lesiones histológicas también son similares aunque en este caso las inclusiones víricas se localizan en el citoplasma y son basófilas ^(14,20,26,34). Por otra parte en el brote descrito en la colonia de *T. hermanni*, el cuadro apareció simultáneamente con una infección bacteriana grave por *Pasteurella testudini*, un patógeno oportunista de estas especies, lo que plantea dudas razonables acerca de si el iridovirus es el desencadenante del proceso o simplemente es capaz de replicarse en animales debilitados por un proceso bacteriano previo ⁽²⁰⁾.

La micoplasmosis de los quelonios, no se ha descrito hasta el momento en tortugas mediterráneas. Es un proceso infeccioso producido por *Mycoplasma agassizii*, y generalmente asociado a complicaciones secundarias debidas a bacterias Gram negativas. Presenta un elevado índice de mortalidad y se caracteriza por una rinitis seropurulenta, intermitente, que en muchas ocasiones llega a cronificarse, pudiendo llegar a producir obstrucciones de las vías respiratorias altas por acumulación de material caseoso en las luces de éstas, así como deshidratación y caquexia del animal en los estadios terminales. En principio es una enfermedad circunscrita a las vías respiratorias altas y no se conocen formas sistémicas del proceso ^(6,23,33). El cuadro lesional microscópico se caracteriza por la presencia de infiltrado inflamatorio en la submucosa y en la lámina propia en diferentes grados de intensidad según la gravedad del proceso. Solamente si la inflamación es muy intensa se puede observar degeneración, necrosis y pérdida de la lámina epitelial aunque en ningún caso se observan inclusiones víricas en las células epiteliales ⁽¹⁵⁾.

Tratamiento y profilaxis

El tratamiento de elección son los compuestos antivíricos, mientras que los antibióticos pueden ser útiles para



evitar infecciones secundarias. En estudios experimentales *in vitro* se ha demostrado que el aciclovir y el ganciclovir son capaces de reducir la replicación vírica en cultivos celulares, aunque no existe información rigurosa sobre su comportamiento *in vivo* ⁽²²⁾. Para algunos autores ^(28,32) la aplicación local de pomadas con aciclovir al 5% mejora la evolución de las lesiones, y la utilización de aciclovir, vía oral, a dosis de 80 mg/Kg/día puede ser efectiva en animales sospechosos de padecer la enfermedad. Finalmente, la administración intramuscular de enrofloxacin (10 mg/Kg/día) ha demostrado ser efectiva en cuanto a la reducción del número de bajas, por eliminación de infecciones bacterianas secundarias ⁽²⁷⁾.

En cuanto a profilaxis se recomiendan periodos de cuarentena de 90 días como mínimo ⁽²⁸⁾, y la realización de pruebas de seroneutralización y aislamiento vírico a partir de secreciones de la cavidad faríngea durante este periodo ⁽²²⁾.

Las medidas de desinfección dependen mucho del tipo de alojamiento: en los alojamientos al aire libre se recomienda hacer rotaciones, dado que se supone que el virus es incapaz de sobrevivir en el medio ambiente y se inactiva a las pocas semanas; si los animales se mantienen en jaulas metálicas o de plástico se recomienda desinfectarlas con hipoclorito sódico al 3% ⁽²⁸⁾.

Summary. Herpesvirus infection in tortoises is a disease in which sick animals mainly show upper respiratory signs. It has been observed in several species of tortoises including *Testudo graeca* and *Testudo hermanni*, both part of the wild reptile population in the mediterranean basin. This paper is a review of the different aspects of this infection with special emphasis on the epidemiology and diagnosis of the disease.

Key words: Tortoise; Herpesvirus; Rhinitis.

Bibliografía

1. Banks TA, Rouse BT. Herpesvirus—immune escape artists'. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 933-941.
2. Biermann R, Blahak S. First isolation of a herpesvirus from tortoises with diphtheroid-necrotizing stomatitis. Proceedings of the 2nd World Congress of Herpetology. Adelaide. Australia. 1994.
3. Bierman R. Isolierung und charakterisierung von herpesviren bei landschildkröten. *Vet Med Diss* 1995 Justus-Liebig-Universität. Giessen. Germany.
4. Boyer TH. Turtles, tortoises and terrapins. En: Mader DR. (Ed.): Reptile medicine and surgery, WB Saunders Company. Philadelphia, 1996: 332-336.
5. Braune S, Geiss V, Thiel W. Eine neue durch herpesviren verursachte erkrankung bei landschildkröten. *Tierärztl Prax* 1989; 17: 416-419.
6. Brown MR, Schumacher IM, Klein PA, Harris RK, Correl T, Jacobson ER. *Mycoplasma agassizii* causes upper respiratory tract disease in the desert tortoise. *Infect Immun* 1994; 62: 4850-4856.
7. Cooper JE, Gschmeissner S, Bone RD. Herpes-like virus particles in necrotic stomatitis of tortoises. *Vet Rec* 1988; 123: 554.
8. Drury SEN, Gough RE, McArthur S, Jessop M. Detection herpesvirus-like and papillomavirus-like particles associated with diseases of tortoises. *Vet Rec* 1998; 143: 639.
9. Frost JW, Schmidt A. Serological evidence of susceptibility of various species of tortoises to infections by herpesvirus. *Verh Erkr Zootiere* 1997; 38: 25-27.
10. Häfeli W, Schildger BJ. Reptilien. En: Göldenboth R, Klös HG. (Eds.): Krankheiten der zoo- und wildtiere. Blackwell Wissenschafts-Verlag. Berlin, 1995: 540.
11. Harper PAW, Hamond DC, Heuschelle WP. A herpesvirus-like agent associated with a pharyngeal abscess in a desert tortoise. *J Wildl Dis* 1982; 18: 491-494.
12. Hayashi H, Kodama H, Mikami T, Izawa H. Serological and genetic relationships of three herpesvirus strains of salmonid fish. *Arch Virol* 1989; 104: 163-168.
13. Heldstab A, Besteti G. Herpesviridae causing glossitis and meningoencephalitis in land tortoises (*Testudo hermanni*). *Herpetopathol* 1989; 1: 5-9.
14. Heldstab A, Besteti G. Spontaneous viral hepatitis in a spur-tailed mediterranean land tortoise. *J Zoo An Med* 1982; 13: 113-120.
15. Jacobson ER, Brown MB, Schumacher IM, Collins BR, Harris RK, Klein PA. Mycoplasmosis and the dessert tortoise (*Gopherus agassizii*) in Las Vegas Valley, Nevada. *Chel Conserv Biol* 1995; 1: 279-284.
16. Jacobson ER, Clubb S, Gaskin JM, Gardiner, C. Herpesvirus-like infection in Argentine tortoises. *JAVMA* 1985; 187: 1227-1229.
17. Kabisch D, Frost JW. Isolation of herpesvirus from *Testudo hermanni* and *Agryonemys horsfieldii*. *Verh Erkr Zootiere* 1994; 36: 241-245.
18. Kübber-Heiss A, Schilcher F, Möstl K. Herpesvirusinfektionen bei landschildkröten in Österreich. *Tierärztl Mschr* 1999; 86: 78-82.
19. Lange H, Herbst W, Wiechert JM, Schliesser T. Elektronenmikroskopischer nachweis von herpesviren bei einem massensterben von griechischen landschildkröten (*Testudo hermanni*) und vierzehenschildkröten (*Agryonemys horsfieldii*). *Tierzt prax* 1989; 17: 319-321.



27 WSAVA CONGRESS

8 FECAVA CONGRESS

37 AVEPA CONGRESS

20. Marschang RE, Becher P, Posthaus H, Wild P, Thiel HJ, Müller-Doblies, Kaleta EF, Bacciarini LN. Isolation and characterization of an iridovirus from hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Arch Virol* 1999; 144: 1909-1922.
21. Marschang RE, Gravendyck M, Kaleta EF. New investigations on herpesvirus in tortoises. *Verh Erkr Zootiere* 1997a; 38: 2-34.
22. Marschang RE, Gravendyck M, Kaleta EF. Herpesvirus in tortoises: investigations into virus isolation and the treatment of viral stomatitis in *Testudo hermanni* and *T. graeca*. *J Vet Med B* 1997b; 44: 385-394.
23. Marschang RE, Posthaus H, Gravendyck M, Kaleta EF, Bacciarini L. Isolation of viruses from land tortoises in Switzerland. Proceedings of the AAZV and AAWV Joint Conference. Chester. Reino Unido. 1998.
24. Martínez-Silvestre A, Majó N, Ramis A. Caso clínico: herpesvirosis en tortuga de desierto americana (*Gopherus agassizii*). *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales* 1999; 19: 99-106.
25. Müller M, Sachsse W, Zangger N. Herpesvirus-epidemie bei der griechischen (*Testudo hermanni*) und der maurischen landschildkröte (*Testudo graeca*) in der Schweiz. *Schweiz Arch Tierheilk* 1990; 132: 199-203.
26. Müller M, Zangger N, Denzler T. Iridovirus-epidemie bei der griechischen landschildkröte (*Testudo hermanni*). *Verhber Erkr Zootiere* 1988; 30: 271-274.
27. Muro J, Ramis A, Pastor J, Velarde R, Tarrés J, Lavín S. Chronic rhinitis associated with herpesviral infection in captive spurtighed tortoises from Spain. *J Wldl Dis* 1998; 34: 487-495.
28. Origgi FC, Jacobson ER. Diseases of the respiratory tract of chelonians. *Vet Clin North Am Exot An Pract* 2000; 3: 537-547.
29. Pettan-Brewer KCB, Drew ML, Ramsay E, Mohr FC, Lowens-tine LJ. Herpesvirus particles associated with oral and respiratory lesions in California desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *J Wldl Dis* 1996; 32: 521-526.
30. Roizman B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, López C, Minson AC, Studdert MJ. The family herpesviridae: an update. *Arch. Virol* 1992; 123: 425-449.
31. Rosenthal KS. Human herpesvirus *En*: Murray PR, Kobayashy GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. (Eds.): Medical microbiology, Mosby. London, 1994: 571-594.
32. Schumacher J. Viral diseases. *En*: Mader DR. (Ed.): Reptile medicine and surgery, WB Saunders Company. Philadelphia, 1996: 224-234.
33. 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. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1454-1460.
34. Westhouse RA, Jacobson ER, Harris RK, Winter KR, Homer BL. Respiratory and pharyngo-esophageal iridovirus infection in a gopher tortoise (*Gopherus agassizii*). *J Wldl Dis* 1996; 32: 682-686.



3,4,5,6 OCTOBER 2002
GRANADA, SPAIN

