

**UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS**

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE  
HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS,  
OCORRÊNCIA DE FIBROPAPILOMATOSE, E IMUNIDADE DAS  
TARTARUGAS VERDES (*Chelonia mydas*) NO BRASIL**

**MARCELO RENAN DE DEUS SANTOS**

**VILA VELHA-ES**  
**MAIO/2015**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS**

**CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE  
HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS,  
OCORRÊNCIA DE FIBROPAPILOMATOSE, E IMUNIDADE DAS  
TARTARUGAS VERDES (*Chelonia mydas*) NO BRASIL**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

**MARCELO RENAN DE DEUS SANTOS**

**VILA VELHA-ES**  
**MAIO/2015**

## SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
PREFÁCIO	xiii
INTRODUÇÃO	1
Bibliografia	3
CAPÍTULO 1: A FIBROPAPILOMATOSE DAS TARTARUGAS-VERDES ( <i>Chelonia mydas</i> ).	
1. INTRODUÇÃO: O QUE É A FIBROPAPILOMATOSE?	7
2. HISTÓRICO DA DOENÇA	7
2.1 Os anos 1990 e a etiologia herpesviral da fibropapilomatose	10
2.2 Século XXI	12
1. CARACTERÍSTICAS DA FIBROPAPILOMATOSE	14
1.1 Características macroscópicas	14
3.2 A categorização do grau de acometimento	18
3.3 Ocorrência de tumores viscerais e orofaríngeais associados à FP cutânea	20
3.4 Características histopatológicas	20
4. EPIDEMIOLOGIA DA FIBROPAPILOMATOSE	27
4.1 Etiologia	27
4.2 Filogeografia do ChHV5	29
4.3 Transmissão, hospedeiros intermediários e vetores	32
4.4 Prevalência e distribuição	35
5. CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS ASSOCIADAS À FP	37
5.1 Fertilizantes e eutrofização	38
5.2 Toxinas de algas tóxicas	39
5.3 Contaminantes	40
6. A IMUNIDADE E A FP – ESTUDOS IMUNOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS	43
7. A FIBROPAPILOMATOSE E A BIOQUÍMICA CLÍNICA	45
8. CONCLUSÕES	46
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 2: NÍVEIS DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EM TARTARUGAS-VERDES JUVENIS DO ATLÂNTICO SUDOESTE.	63
Resumo gráfico	63
Resumo	63
Abstract	64
1. Introdução	65
2. Materiais e métodos	66
2.1 Características das áreas de estudo	67
2.2 Captura das tartarugas	68
2.3 Biometria	69
2.4 Coleta de sangue	69
2.5 Análise química	69
2.6 Estatística	70
3 Resultados e discussão	70

4	Conclusões	72
5	Agradecimentos	72
6	Referências bibliográficas	81
CAPÍTULO 3 Correlação dos níveis plasmáticos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos com o grau de fibropapilomatose em tartarugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) de uma baía urbana no sudeste do Brasil.		86
	Resumo	86
	Abstract	87
	Introdução	88
	Materiais e métodos	90
	Captura e amostragem	90
	Análise bioquímica plasmática	91
	Análises químicas	91
	Estatísticas	92
	Resultados e discussão	92
	Conclusões	96
	Agradecimentos	96
	Referências bibliográficas	105
	CONCLUSÃO GERAL	110

## INTRODUÇÃO GERAL

A fibropapilomatose das tartarugas-verdes é uma neoplasia infecciosa emergente panzoótica que acomete especialmente as tartarugas-marinhas da espécie *Chelonia mydas*. Sua prevalência alta e seu caráter debilitante a colocam como a principal doença que afeta a sobrevivência das tartarugas-verdes (HERBST, 1994). Este tema foi abordado no capítulo 1 desta tese, uma profunda e abrangente revisão bibliográfica abordando os aspectos patológicos, epidemiológicos, imunológicos e ambientais da fibropapilomatose.

Um aspecto recorrente nas publicações sobre a fibropapilomatose é o fato da doença ocorrer mais em áreas poluídas, costeiras e com baixo hidrodinamismo, ou seja, áreas mais insalubres do ambiente marinho (HERBST, 1994; SANTOS et al., 2010; VAN HOUTAN; HARGROVE; BALAZS, 2010). Por exemplo, no Atol das Rocas não há nenhum caso de fibropapilomatose confirmado desde que se começou a avaliar a ocorrência da doença no Brasil. No Parque Nacional Marinho dos Abrolhos, Bahia, encontramos 3 tartarugas com FP entre 51 capturadas em 2013. Enquanto isso, em Vitória, Espírito Santo a doença alcança 58% de prevalência (SANTOS et al., 2010). O mesmo ocorrendo em quase toda costa brasileira, de acordo com o único estudo epidemiológico amplo feito no Brasil (BAPTISTOTTE, 2007), mas que necessita de atualização pois compreende apenas o período 2000-2005.

Para se compreender essa “predileção” da FP por áreas poluídas, o estudo dos contaminantes com potencial de contribuir com a doença é fundamental. Recentemente, se excluiu a relação entre pesticidas e outros poluentes orgânicos como causadores ou indutores da doença (KELLER et al., 2014). No grupo dos poluentes orgânicos, falta explorar os derivados do petróleo que são cancerígenos, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP). O risco imposto pelo desenvolvimento das atividades petrolíferas na costa brasileira e a carência de informações científicas sobre a influência dos HAP sobre a fauna marinha ensejaram a realização desta tese.

A literatura sobre os impactos dos HAP sobre o ambiente marinho provém principalmente de estudos feitos a reboque dos grandes acidentes ambientais envolvendo petróleo no mundo. É uma característica comum a muitos países, inclusive os mais desenvolvidos, não possuírem uma atitude preventiva em relação aos derrames de óleo, assim, a maior parte das informações técnicas refere-se a contextos pós-derrame, não havendo parâmetros de normalidade para se avaliar o efeito desses impactos. Os

esforços de contenção, remoção e limpeza bilionários, não são suficientes para provocar uma postura preventiva, especialmente no que diz respeito ao conhecimento prévio do ambiente marinho e suas características ecológicas. Por exemplo, o maior derrame de óleo ocorrido nos EUA foi o da plataforma da BP, Deepwater Horizon, no golfo do México em 2010 de onde vazaram durante 3 meses 4,1 milhões de barris de óleo cru (REDDY et al., 2012). A mancha atingiu a costa do estado da Louisiana causando grande impacto ecológico. Só com atividades de limpeza, a empresa gastou 14 bilhões de dólares e também teve que pagar uma multa do mesmo valor. Com o ocorrido, muito se discutiu e promessas foram feitas para aumentar a segurança ambiental da atividade, mas até hoje nada saiu do papel. Recentemente, houve a explosão no navio plataforma FPSO Cidade de São Mateus, no dia 11 de dezembro de 2014, na costa de Aracruz, no Espírito Santo com 6 mortos e outros desaparecidos, mas sem derrame de óleo. O risco de um derrame na costa do Espírito Santo é real e iminente.

Para se medir o grau de recuperação após um impacto, é preciso saber como era o ambiente antes. Caso contrário, corre-se o risco de se desperdiçar esforços desnecessários ou pior, minimizar os esforços quando na verdade são necessários (MCDONALD; ERICKSON; MCDONALD, 2000). Conhecer os níveis basais de contaminação por óleo e seus componentes nos ambientes mais sujeitos a derrames ou impactos crônicos é importante. Por essa razão, relatar os níveis sanguíneos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) em tartarugas marinhas de diferentes áreas contribui para se ter uma linha de base e medir a que grau de contaminação as tartarugas estão expostas na costa brasileira. Para contribuir com esse tema descrevemos no capítulo 2 desta tese as concentrações plasmáticas de HAPs em tartarugas-verdes juvenis de três áreas de alimentação no Brasil com graus distintos de impacto antrópico.

A pergunta que este trabalho procura responder é se os HAP influenciam na ocorrência da FP. Porém, baseado na capacidade de detoxificação destes vertebrados através dos sistemas enzimáticos oxidativos, a hipótese que defendemos é que essa influência não existe, apesar do efeito carcinogênico desses compostos (ALBERS; LOUGHLIN, 2003). Se for comprovada, podemos partir para “navegar” no contexto ecológico da transmissão da doença e na relação hospedeiro-parasita do herpesvirus associado à FP e ficamos menos à deriva em relação ao efeito desse grupo de poluentes. Ainda assim, caso encontre níveis detectáveis destes poluentes no sangue das tartarugas nas diferentes áreas estudadas, devemos pensar em usá-las como bioindicadores da presença de PAH no ambiente marinho (AGUIRRE; LUTZ, 2004). Neste contexto, no

capítulo 3, avaliamos as concentrações plasmáticas de HAPs em tartarugas-verdes juvenis com diferentes graus de acometimento por FP de uma área de alimentação no Espírito Santo. Os resultados não confirmam uma participação dos HAP na ocorrência da doença, mas revelam possíveis implicações dos níveis de HAP sobre a saúde geral dos indivíduos acometidos e conseqüentemente, da população.

Aos poucos vamos aprendendo mais sobre a FP e à medida que avançamos, a névoa que cobre a doença vai se dissipando e revelando seu caráter infeccioso panzootico, e talvez sujeito a outros dogmas epidemiológicos que o ambiente marinho oculta. Se considerarmos a escala temporal biológica das tartarugas marinhas, menos de 3 gerações se passaram desde 1938, quando a FP foi relatada e podemos ainda estar assistindo ao início dessa epizootia, ou não. Quem sabe ao seu declínio, como observado no Havaí (CHALOUPKA; BALAZS; WORK, 2009). Enquanto isso, não esqueçamos que outros patógenos estão reagindo às mudanças genéticas, populacionais dos seus hospedeiros, em um mundo em franca mudança climática e conseqüentemente em desarranjo. Sem desmerecer a importância da FP, devemos considerá-la um dos componentes de uma fórmula que ainda está por ser devidamente descrita. Talvez a FP seja a ponta visível de um *iceberg*, que oculta uma enorme cadeia de relações ecológicas no ambiente marinho. Devemos estudar a FP em seu contexto ecológico amplo. Só assim, estaremos contribuindo de fato para a compreensão desse fenômeno e dos seus impactos sobre as populações de tartarugas marinhas. Assim vamos aos poucos contradizendo o que disse o Dr. Lawrence H. Herbst com desalento sobre a fibropapilomatose em 1999: "*Hope floats on a sea of ignorance*"<sup>2</sup>.

### *Referências bibliográficas*

AGUIRRE, A. A.; LUTZ, P. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? **EcoHealth**, v. 1, n. 3, p. 275–283, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10393-004-0097-3>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

ALBERS, P. H.; LOUGHLIN, T. R. Effects of PAHs on Marine Birds, Mammals and Reptiles. In: DOUBEN, P. E. T. (Ed.). **PAHs: An Ecotoxicological Perspective**. Chichester, England: Wiley, 2003. p. 245–261.

---

<sup>2</sup> Palestra proferida no Décimo nono Simpósio anual de Biologia e Conservação de Tartarugas Marinhas. 2 a 6 de Março de 1999, South Padre Island, Texas, EUA.

BAPTISTOTTE, C. **Caracterização espacial e temporal da fibropapilomatose em tartarugas marinhas da costa brasileira**. 2007. Escola Superior de Agricultura Luiz deQueiroz, 2007.

CHALOUPKA, M. Y.; BALAZS, G. H.; WORK, T. M. Rise and Fall over 26 Years of a Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles. **Journal of Wildlife Diseases**, 2009.

CTA MEIO AMBIENTE. **Programa de monitoramento de praias: Bacia deCampos e Espírito Santo. Relatório anual CTA-DT-454/11**. [s.l.: s.n.].

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis of marine turtles. **Annual Review of FishDiseases**, v. 4, n. 6, p. 389–425, 1994. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T46-49KKP57-1P/2/0ce9fca56db719c42c487ebea7c23554>>.

KELLER, J. M.; BALAZS, G. H.; NILSEN, F.; RICE, M.; WORK, T. M.; JENSEN, B. a. Investigating the potential role of persistent organic pollutants in Hawaiian green sea turtle fibropapillomatosis. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 14, p. 7807–16, 15 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24963745>>.

MCDONALD, T. L.; ERICKSON, W. P.; MCDONALD, L. L. Analysis of Count Data from Before-after Control-Impact Studies. **Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics**, v. 5, n. 3, p. 262, 2000.

REDDY, C. M.; AREY, J. S.; SEEWALD, J. S.; SYLVA, S. P.; LEMKAU, K. L.; NELSON, R. K.; CARMICHAEL, C. a; MCINTYRE, C. P.; FENWICK, J.; VENTURA, G. T.; VAN MOOY, B. a S.; CAMILLI, R. Composition and fate of gas and oil released to the water column during the Deepwater Horizon oil spill. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 3 fev. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21768331>>. Acesso em: 10 ago. 2012.

SANTOS, R. G. dos; MARTINS, A. S.; TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; FARIAS, J. da N.; HORTA, P. A.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relationship between fibropapillomatosis and environmental quality: A case study with chelonia mydas off Brazil. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 89, n. 1, p. 87–95, 24 fev. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20391916>>. Acesso em: 16 jun. 2012.

SANTOS, M. R. de D. **Parâmetros bioquímicos, hematócrito e condição corporal no monitoramento da saúde de tartarugas marinhas chelonia mydas (linnaeus,1758) juvenis selvagens no espírito santo, brasil.** 2005. Universidade Federal do Espírito Santo, 2005.

SANTOS, M. R. de D.; FERREIRA, L. S.; BAPTISTOTTE, C.; GROSSMAN, A.; BELLINI, C. Valores hematológicos de tartarugas marinhas Chelonia mydas ( Linnaeus , 1758 ) juvenis selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha , Pernambuco , Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal science**, v. 46, n. 6, p. 491–499, 2009.

SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L.; CUBAS, Z. S. (ed.). **Tratado de animais selvagens - medicina veterinária.** [s.l.] Roca, 2007.

SMITH, G. M.; COATES, C. W. Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles, Chelonia mydas (Linnaeus). **Zoologica**, v. 23, p. 93–98, 1938.

VAN HOUTAN, K. S.; HARGROVE, S. K.; BALAZS, G. H. Land use, macroalgae, and a tumor-forming disease in marine turtles. **PloS one**, v. 5, n. 9, p. 9, jan. 2010. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0012900>>. Acesso em: 8 jan. 2015.

## CAPÍTULO 1

SANTOS, Marcelo Renan de Deus. Universidade Vila Velha-UVV, maio 2015. **A fibropapilomatose das tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*).**

Orientador: Carlos Eduardo Tadokoro

### *Resumo*

A fibropapilomatose das tartarugas-verdes é dentre as doenças, reconhecida como a que mais ameaça a sobrevivência das tartarugas-marinhas no mundo. Exibe relações epidemiológicas com as características antrópicas do meio marinho, porém até o momento, não se conseguiu elucidar estas relações. Durante os últimos 35 anos, muito conhecimento se produziu a respeito dessa doença, porém a última revisão bibliográfica publicada data de 1994. Neste período, vários estudos conseguiram esclarecer pontos sobre etiologia e distribuição da doença e um novo vírus foi descoberto, enquanto isso a doença se consolidou como uma pandemia. Neste trabalho fazemos uma revisão bibliográfica profunda desde os primeiros trabalhos publicados, com ênfase na organização dos conhecimentos gerados a partir da década de 1990, de maneira que o leitor consiga ter uma visão crítica geral dos aspectos históricos, epidemiológicos, clínicos e ecológicos da fibropapilomatose.

Palavras chave: doenças infecciosas emergentes; epidemiologia; tartarugas-marinhas; herpesvírus; medicina da conservação.

### *Abstract*

Green turtle fibropapillomatosis is recognized as the most threatening disease to sea turtles worldwide. It exhibits epidemiological relations with the anthropic characteristics of the marine environment, but, until now, it has not been possible to elucidate these relations. During the last 35 years, a lot of knowledge was produced about this disease, but the last bibliographic review was published in 1994. On this period, many studies shed light on subjects about the clinical manifestations, etiology and distribution of the disease and a new virus was discovered meanwhile the disease became pandemic. In this work, we make a vast bibliographic review since the first published papers, with emphasis on the organization of the knowledge generated since the 1990 decade, in order to provide a critical view of the historical, epidemiological, clinical and ecological aspects of fibropapillomatosis.

Key words: emerging infectious diseases, epidemiology, sea turtles; herpesvirus; conservation medicine.

## A FIBROPAPILOMATOSE DAS TARTARUGAS-VERDES (*Chelonia mydas*).

“Certamente, a FP tem efeitos negativos sobre as tartarugas-verdes da Indian River Lagoon mas difíceis de quantificar. Porém, a alta prevalência de regressão de tumores acoplada aos indicadores indiretamente relacionados da condição da população da Flórida, sugerem que FP pode não ser o sério impedimento para a recuperação da população como uma vez foi pensado.” (HIRAMA; EHRHART, 2007)

### 1. INTRODUÇÃO: O QUE É A FIBROPAPILOMATOSE?

A fibropapilomatose das tartarugas-verdes (FP) é uma neoplasia benigna da pele de tartarugas marinhas, que acomete principalmente as da espécie *Chelonia mydas*. Há relatos raros nas espécies *Lepidochelys olivacea*, *Eretmochelys imbricata*, *Dermochelys coriacea* e *Caretta caretta*. São crescimentos (tumores) de células epiteliais e de tecido conjuntivo, bem circunscritos que podem chegar a mais de 30 cm de diâmetro. O mesmo animal pode ter dezenas de tumores de diferentes tamanhos. Os tumores podem ter um aspecto verrucoso, liso ou de couve-flor e muitas vezes possuem feridas e lacerações traumáticas. São vascularizados e enervados, portanto sangram e podem ser doloridos quando lesionados. Alguns animais podem apresentar tumores orofaríngeais e internos que se manifestam em geral na forma de fibromas ou mixofibromas (WORK et al., 2004). A doença é debilitante pois prejudica a visão, a locomoção, a capacidade de fuga e de alimentação, fazendo com que animais acometidos se tornem emaciados podendo levar à morte, além de aumentar chance de se emalharem em redes e linhas de pesca (HERBST, 1994).

### 2. HISTÓRICO DA DOENÇA

Em 1938, há 77 anos, Smith e Coates publicaram a descrição de uma doença com o título “Crescimentos fibroepiteliais da pele de tartarugas marinhas grandes (*Chelonia mydas*, Linnaeus)”. Encontraram uma tartaruga verde no Aquário de Nova York e três tartarugas-verdes com tumores dentro de um grupo de 200 animais de vida livre amostrados em Key West, Flórida (SMITH; COATES, 1938). Uma fotografia de 1923 de uma tartaruga tomando sol com um tumor na superfície dorsal da nadadeira anterior esquerda em French Frigate Shoals, no Havaí, seria

possivelmente a evidência mais antiga da ocorrência de FP, mas foi considerada inválida (BALAZS, 1980; BALAZS; POOLEY, 1991). O segundo relato de FP foi também em 1938, no Parque Nacional de *Dry Tortugas* em *Cape Sable*, Flórida (LUCKÉ, 1938). Em 1948 foram relatados os primeiros fibromas viscerais associados à fibropapilomatose nos pulmões em uma tartaruga (SCHLUMBERGER; LUCKÉ, 1948). Em 1958 a doença foi relatada em Sarawak e Malaya na Malásia (HENDRICKSON, 1958) e também houve o primeiro relato no Havaí (BALAZS; POOLEY, 1991). Em uma apresentação *no 6th Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation* em Waverly, na Geórgia, EUA, em 1986, George H. Balazs, fez um relato da história da doença até então (BALAZS, 1986): a partir de 1965, o Museu Nacional de História Natural do Smithsonian Institute iniciou o Registro de Tumores de Animais Inferiores (RTLA), que recebe, analisa e mantém um banco de amostras de tecidos de tumores. Desde então amostras de FP foram depositadas provenientes da Flórida, Havaí e de uma fazenda de tartarugas das Ilhas Cayman (Cayman Turtle Farm)<sup>3</sup>. Em 1980 um surto de FP na fazenda iniciou-se com uma *C. mydas* adulta que havia sido introduzida no plantel 2 anos antes e a doença se disseminou. Apenas 2 casos foram relatados em 1982 mas a partir de 1986 se tornaram comuns na costa leste da Flórida Central. Desde 1983 o número de casos foi aumentando no Havaí alcançando prevalências entre 31 e 85% em Maui e 92% em Kaneohe Bay em 1990 (BALAZS; POOLEY, 1991). Balazs relatou também comentários de outros pesquisadores sobre a ocorrência de FP em *Lepidochelys olivacea* no pacífico leste. Naquela época a FP era considerada uma papilomatose que ocorria em tartarugas verdes juvenis a partir de 45 cm e adultas. Afetava principalmente as áreas de pele mole e prejudicava a mobilidade, visão e alimentação das tartarugas, além de facilitar os acidentes com pesca, a predação e outras ameaças. Aparentemente havia uma facilitação também ao parasitismo por sanguessugas *Ozobranchus branchiatus*. A doença também causava emaciação e se desenvolvia rápido. Mais adiante veremos que essa descrição é bem atual.

A princípio, a presença de ovos de parasitas (*Spirorchidae*) associados aos tumores analisados no Smithsonian levou os pesquisadores e considerarem a doença uma resposta não neoplásica caracterizada por uma exuberante fibrose por corpo estranho associada a uma hiperplasia papilar epidérmica (BALAZS, 1986). Ainda não havia relatos de regressão da doença e mencionou-se o tratamento cirúrgico sem sucesso pois os tumores recidivavam. Além dos parasitas, muitas possíveis causas foram elencadas: secreção de hirudina por sanguessugas

<sup>3</sup> A Fazenda de tartarugas Cayman foi fundada em 1968 para criar tartarugas marinhas para consumo. Até 1978, coletou mais de 470 mil ovos em diversos locais do Caribe, além de adultos, filhotes juvenis para compor seu rebanho. Em 1983 foi comprada pelo governo local e finalmente em 2000 se tornou apenas uma atração turística. Possivelmente foi um local de disseminação de FP, apresentando aumento no número de casos relatado em 1981, e mantém até hoje um grande número de tartarugas em cativeiro. [www.turtle.ky](http://www.turtle.ky)

marinhas, vírus, radiação solar excessiva, poluentes químicos que afetem o sistema imune, estresse e predisposição genética a neoplasias.

Em 1986 houve o primeiro relato de FP no Brasil, no estado do Espírito Santo (BAPTISTOTTE et al., 2001). A partir de então o Projeto TAMAR passou a registrar a FP nos trabalhos de campo. O primeiro informe de incidência de FP (1986 a 2000) indicava a presença de FP em diversos estados brasileiros e também na Ilha de Trindade (14 casos em *C. mydas*), que é a principal área de reprodução para a espécie no Brasil. Também foi relatada a presença de FP em uma *Caretta caretta* e em 3 *Lepidochelys olivacea*. Posteriormente os relatos da Ilha de Trindade foram considerados equivocados pois não foram confirmados nos exames histopatológicos e até hoje não há relatos de FP nas ilhas oceânicas Brasileiras (Baptistotte, C. comunicação pessoal, Baptistotte 2007).

Em 1990 a FP foi confirmada na Austrália, com casos também em 1994 e 1996, quando foram relatados casos em *Caretta caretta* e *Natator depressus* (RAIDAL; PRINCE, 1996). Em 1997 um estudo revelou uma prevalência de 21,5%, considerada moderada na Indonésia (ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997). Neste estudo, as tartarugas com FP estavam anêmicas em relação as saudáveis.

Em 1989 um estudo anatomopatológico e ultra-estrutural da fibropapilomatose foi realizado (JACOBSON et al., 1989) em busca de um agente viral, já que as características da doença quando comparadas a de outras espécies sugeriam um papilomavírus, mas sem sucesso no seu isolamento. Jacobson (1990) já indicava que se houvesse um agente infeccioso na transmissão da doença, seria mais fácil isolá-lo de tumores em fase inicial de desenvolvimento, o que mais tarde se mostrou verdade (RODENBUSCH et al., 2012; WORK et al., 2014b).

A primeira revisão de literatura ampla e publicada em periódico científico sobre fibropapilomatose foi feita por Lawrence H. Herbst, em 1994, quando a FP já havia se tornado uma epizootia pandêmica com prevalências elevadas como 92% em algumas populações (HERBST, 1994). Já havia sido descrita em *L. olivacea* (AGUIRRE et al., 1999), *Natator depressus*, *C. caretta* e *E. imbricata*, mas era caracteristicamente, uma doença de *C. mydas*. A etiologia continuava desconhecida, e as mesmas hipóteses sugeridas por George H. Balazs oito anos antes continuavam sem comprovação. A maior descoberta era a identificação de um herpesvirus associado aos tumores mas sem confirmação de causalidade através do cumprimento do postulado de Koch. Os estudos epidemiológicos eram poucos, mas já indicavam a distribuição global e uma maior prevalência da doença em áreas costeiras poluídas. A falta de conhecimentos sobre o agente etiológico, o papel dos imunomoduladores naturais e a falta de testes diagnósticos eram uma barreira para se testar qualquer hipótese de falha imunológica (HERBST, 1994).

## 2.1 Os anos 1990 e a etiologia herpesviral da fibropapilomatose

A década de 1990 foi importante para os estudos sobre a etiologia da FP. Com os estudos liderados por Lawrence Herbst, Elliott Jacobson e Paul Klein nos EUA, a participação de um vírus foi confirmada e também se conseguiu promover a infecção experimental em *C. mydas* através da injeção de um extrato sub-celular do tumor. Com isso, uma certeza e uma hipótese vieram à tona: a doença é infecciosa e provavelmente causada por um novo herpesvirus (HERBST et al., 1995a, 1995b, 1998, 1999). Outros pesquisadores tentaram isolar algum agente bacteriano ou viral dos tumores, mas sem sucesso (AGUIRRE et al., 1994b). Até o momento o cultivo do vírus em laboratório não foi conseguido.

Um achado intrigante e que foi inicialmente associado à etiologia da FP foram os ovos de espirorquídeos frequentemente encontrados dentro dos vasos sanguíneos nos tumores. Estudos de Dailey & Morris, (1995) com inoculação de ovos isolados de tumores em tartarugas saudáveis não conseguiram reproduzir a doença. Simultaneamente, um grupo da Universidade da Flórida, conseguiu demonstrar uma alta correlação sorológica entre a FP e anticorpos anti- herpesvírus (HERBST et al., 1995a). A associação FP x Spirorchidae continuou sendo estudada, pois mesmo sem haver uma correlação causal entre as doenças, a alta prevalência de espirorquidíase e sua ocorrência simultânea com a FP pode contribuir para agravar o quadro debilitante nas tartarugas acometidas (AGUIRRE et al., 1998).

Os estudos sobre transmissão da FP evoluíram com sucesso. Foi conseguida a transmissão da FP através da inoculação por escarificação ou injeção de um filtrado subcelular de extrato de tumor em tartarugas juvenis criadas desde neonatas. Com isso foi demonstrado que a FP era causada por um agente infeccioso subcelular e possivelmente, um “herpesvirus- like” identificado por microscopia eletrônica seria este agente (HERBST et al., 1995c). As características histopatológicas dos tumores induzidos e naturais eram basicamente semelhantes (HERBST et al., 1999). Sabia-se também que o agente era inativado com clorofórmio, sugerindo que possuía uma estrutura lipídica como um envelope (HERBST et al., 1996).

Em 1996, com uso de biologia molecular, as evidências apontavam para a existência de um alfa-herpesvirus específico de tartarugas marinhas (HERBST et al., 1998). As pesquisas para se descobrir qual vírus estava associado à FP evoluíram e foi detectado por PCR um novo

herpesvirus (CHV – Chelonid Herpes Virus) cuja sequência de DNA variava entre regiões geográficas (Florida x Havaí) e entre espécies, pois os vírus encontrados em *C. caretta* e *C. mydas* eram diferentes dos de *L. olivacea* (QUACKENBUSH et al., 1998). Outros autores ainda tentaram comprovar a participação de retrovírus na etiologia da FP (CASEY et al., 1997), mas, estudos subsequentes progressivamente avançaram com evidências mais robustas da participação de herpesvirus e não houve mais estudos sobre a participação de um retrovírus.

Apesar das evidências cada vez mais apontarem para uma herpesvirose, as tentativas de cultivar o vírus, mesmo em células de tartarugas não obtiveram sucesso (LACKOVICH et al., 1999) e com isso, o cumprimento do postulado de Koch, permanece incompleto.

Mesmo com evidências da associação causal com o herpesvirus, isso por si só não explicaria as características ecológicas já conhecidas da FP, como por exemplo, afetar principalmente juvenis, ocorrer em áreas costeiras mais poluídas e uma grande variação de ocorrência mesmo em áreas geográficas próximas (HERBST, 1994) e também a confirmação de que a doença poderia regredir em alguns animais (BENNETT; KEUPER-BENNETT; BALAZS, 1999). Assim, alguns estudos tentavam correlacionar a ocorrência de FP com fatores ambientais. Estudos com poluentes orgânicos persistentes e metais pesados não foram conclusivos pois os limites de quantificação elevados não foram suficientes para detectar os contaminantes, muito menos permitiram uma avaliação da toxicidade crônica em doses baixas (AGUIRRE et al., 1994a). A presença de ácido okadaico, toxina produzida por dinoflagelados (*Prorocentrum sp.*) que é oncogênica, poderia ser um fator predisponente da FP uma vez que ocorre nas mesmas áreas onde a prevalência de FP é maior e as tartarugas são portanto, expostas a essa toxina via alimento (LANDSBERG et al., 1999). O ácido okadaico poderia funcionar como um facilitador do surgimento e desenvolvimento da FP.

A década de 1990, apesar de ter sido um período muito produtivo em conhecimento produzido, em termos práticos, pouco se avançou em relação a aspectos como controle, epidemiologia e no estudo ecológico e multifatorial da FP. Poucas das perguntas feitas uma década antes foram respondidas e a maioria continuava sem resposta. Dr. Herbst durante o Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation no ano 2000, revisou em sua palestra intitulada “Marine turtle fibropapillomatosis: hope floats in a sea of ignorance”, o que se sabia até então sobre a FP:

- Que a FP é transmissível, que havia um componente herpesviral mas que não prescindia de outros fatores para desenvolvimento e desfecho da doença.

- Que as premissas do postulado de Koch não haviam sido preenchidas, portanto não se podia simplesmente atribuir a causa ao herpesvírus.
- Que era inviável qualquer tentativa de manejo de populações já que a doença havia se tornado uma pandemia.
- Que não há conhecimento sobre o comportamento da FP para se propor modelos preditivos.
  - Que a doença mata algumas tartarugas enquanto que outras se recuperam.
- Que o curso da doença é longo e que as tartarugas ficam mais sujeitas a predação, fome e acidentes com pesca.
  - Que os efeitos sobre as populações poderiam não se tornar evidentes em décadas.
- Que com a prolongada espera, a razão para se ter esperança é que continuaríamos aprendendo sobre a patogênese e epizootiologia da doença para se tomar ações efetivas se necessário e que talvez não seria tarde demais (HERBST, 2000).

## 2.2 Século XXI

Os anos 2000 iniciaram com estudos sobre os efeitos da FP sobre a imunidade chegando-se a conclusão de que as tartarugas com FP possuem diminuição da resposta linfocitária a mitógenos (CRAY et al., 2001) e não necessitam estar imunocomprometidas para adquirir a FP, mas que uma vez doentes, tornam-se mais susceptíveis a outras doenças (WORK et al., 2001), corroborando achados anteriores (AGUIRRE et al., 1995). Os estudos hematológicos e bioquímicos foram repetitivos em demonstrar a característica debilitante da FP quando em graus elevados de acometimento (WORK; BALAZS, 1999; AGUIRRE; BALAZS, 2000; SANTOS, 2005; ROSSI et al., 2009).

Em 2000 foi documentado o primeiro caso confirmado de FP em *Eretmochelys imbricata* (D'AMATO; MORAES-NETO, 2000) e foi no Brasil. Duas tartarugas de cativeiro das bases do projeto TAMAR de Praia do Forte, Bahia e de Sergipe, desenvolveram fibropapilomatose. Ambas criadas desde filhotes em cativeiro o que sugeriu mais uma vez que a doença pode ser transmitida em cativeiro e que cuidados sanitários deviam ser tomados para evitar a contaminação.

Os primeiros registros de FP na costa do Golfo da Guiné, oeste da África datam de 2000 com 17% de prevalência no Gabão (FORMIA et al., 2007). Na ilha Príncipe, também no Golfo da Guiné, os registros datam de 2009 e foram confirmados tanto por histopatologia, quanto por RT-PCR (DUARTE et al., 2012).

Estudos continuaram elucidando a participação do herpesvirus na etiologia da FP. Através de métodos moleculares por PCR, o DNA viral foi encontrado em diversos tecidos além dos tumores de tartarugas com FP e não foram detectados em tartarugas sem FP (LU et al., 2000b). Simultaneamente, se conseguiu induzir a formação de “tumores” in vitro, pela inoculação de filtrados livres de células em células cultivadas de tartarugas-marinhas (LU et al., 2000a) e posteriormente, o sequenciamento do cDNA viral e a identificação da replicação viral em tumores (LU et al., 2003). Não demorou muito e o FPTHV – fibropapilloma-associated turtleherpesvirus, foi considerado uma nova descoberta viral e classificado na família Alphaherpesvirinae, em um novo gênero, e foram identificadas inicialmente 4 variantes: pacífico-central (Havaí), pacífico-oeste (Austrália), Pacífico-leste (Costa Rica e Califórnia) e atlântico (Flórida e Barbados), sugerindo que o vírus já existia muito antes da pandemia de FP (NIGRO; AGUIRRE; LU, 2004; GREENBLATT et al., 2005).

O novo vírus foi classificado como da família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero Scutavirus e foi chamado de Chelonid herpes virus 5 (ChHV5) (ICTV, 2011).

Novo estudo sobre a filogenia do ChHV5 definiu novas variantes virais separadas por áreas geográficas e contribuiu para sustentar a hipótese de que as tartarugas adquirem a FP após a fase oceânica quando recrutam na costa em áreas de alimentação (PATRÍCIO et al., 2012).

Os dois estudos publicados até hoje sobre filogeografia global do ChHV5 (PATRÍCIO et al., 2012; ALFARO-NÚÑEZ et al., 2014) praticamente ignoraram o oceano Atlântico sul, especialmente considerando que a costa brasileira tem um dos maiores programas de conservação de tartarugas do mundo, e que não seria difícil conseguir material de pesquisa. Porém, estudos pioneiros no Rio Grande do Sul por Carla Rodenbusch elucidaram as características genéticas do ChHV5 no Brasil (RODENBUSCH et al., 2012, 2014).

Em junho de 2014, foi realizado pelo Instituto Marcos Daniel em Vitória, Espírito Santo, o I Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas, reunindo pesquisadores brasileiros sobre o tema. São poucos os grupos de pesquisa que se dedicam a esse tema. Foram expostos os trabalhos de pesquisa com destaque para genética na Universidade Federal de Santa Maria, estudos hematológicos e bioquímicos e sobre a correlação com poluentes na Universidade de São Paulo, Universidade Vila Velha e Instituto Marcos Daniele aspectos epidemiológicos pelo projeto TAMAR/ICMBio. Além disso, estudos de diagnóstico bioquímico e das correlações ambientais foram realizados na Universidade Federal do Espírito

Santo. Todas essas contribuições brasileiras estão relatadas ao longo desse trabalho. As lacunas no conhecimento da FP no Brasil refletem o desconhecimento global sobre a doença. O Brasil muito se beneficiaria de parcerias internacionais com grupos de pesquisas de diferentes áreas para os quais poderia enviar amostras coletadas pela ampla rede de monitoramento realizado pelo Projeto TAMAR e por empresas que fazem o monitoramento de encalhes. Isso otimizaria o esforço de pesquisa, aproveitando melhor recursos existentes em outros países e evitando especialmente a sobreposição de esforços. Assim o Brasil iria acelerar a produção de conhecimento, economizando tempo e recursos que são escassos, na montagem de laboratórios e estruturação de centros de pesquisa específicos.

A balança do conhecimento da FP continua tendendo mais para o prato vazio, especialmente se considerarmos aspectos práticos como ações a serem tomadas em relação as populações, conhecimento sobre os aspectos ambientais relacionados à FP, a relação de outras doenças comuns com o desenvolvimento da FP, seus efeitos sobre o indivíduo e especialmente os efeitos sobre a viabilidade populacional e a sobrevivência das espécies, especialmente *C. mydas*.

### **3. CARACTERÍSTICAS DA FIBROPAPILOMATOSE**

#### **3.1 Características macroscópicas**

Os tumores iniciam com menos de 1 mm e crescem podendo chegar a mais de 30 cm de diâmetro. Seu aspecto pode ser liso, verrucoso ou papilar. Podem ser pedunculados ou sésseis. Podem ter coloração normal da pele da região afetada, ser pigmentados ou ainda róseos avermelhados dependendo da cor da pele e da vascularização superficial (observações pessoais – figura 1). É comum observar tumores com lacerações e feridas, pois são mais propensos a sofrerem danos por predadores, acidentes com linhas e redes de pesca (HIRAMA; EHRHART, 2007), ou ainda ocasionais lesões por abrasão em pedras ou corais (Figura 6). Por serem vascularizados e inervados, os tumores sangram e podem ser doloridos quando lesionados (HERBST, 1994).

O mesmo animal pode ter dezenas de tumores cobrindo uma extensa área do corpo (figuras 3 e 4). Uma tartaruga juvenil analisada em São Paulo possuía 70 tumores cobrindo 239 cm<sup>2</sup> do corpo (ROSSI et al., 2009). Mas a variabilidade da resposta individual, as variações geográficas na manifestação da FP são grandes e um método de categorização do grau de acometimento se fez necessário.

A manifestação da FP no Brasil se diferencia de outras regiões geográficas quanto a quantidade, localização e tamanho dos tumores. Em geral as tartarugas apresentam mais

tumores na região cranial do que caudal do corpo (SANTOS et al., 2010). Os tumores situam-se principalmente no pescoço, nadadeiras anteriores, região axilar, inguinal e peri-cloacal (figuras 3 e 4). Na Indonésia, os tumores são mais frequentes na região posterior do corpo (ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997). Em todos os locais, porém, um achado importante é a alta ocorrência de FP nos olhos, podendo estar nas pálpebras ou na córnea, comprometendo parcialmente ou totalmente a visão (BROOKS et al., 1994) (figuras 1 a 8). Portanto, esse pode ser um fator agravante da condição do animal. Em estudos anteriores encontramos quase 60% de 140 tartarugas examinadas no município de Serra, Espírito Santo, com tumores oculares (SANTOS, 2005).

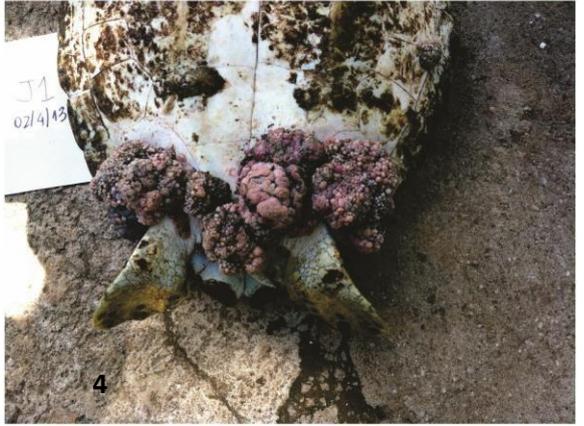


Figura 1: *Chelonia mydas* com fibropapiloma peduncular ocular bem desenvolvido com coloração congesta evidenciando intensa irrigação sanguínea, superfície lisa, apresentando áreas ulceradas em diversos graus de cicatrização. Animal em boa condição corporal. Foto do autor.

Figura 2: Fibropapiloma ocular pigmentado com aspecto verrucoso cobrindo parcialmente a córnea direita. Foto do autor.

Figuras 3 e 4: *C. mydas* apresentando fibropapilomatose disseminada apresentando tumores de diversos tamanhos e colorações, com aspecto verrucoso, sésseis e pedunculados. Apresenta sinais de diminuição de atividade com intensa carga epibiôntica, apesar da condição corporal mediana. Foto do autor.

Figura 5: *Chelonia mydas* apresentando poucos tumores disseminados, de tamanho inferior a 10 cm, com tumor ocular esquerdo, ulcerações e um tumor no plastrão. Condição corporal mediana. Foto do autor.

Figura 6: Mesmo animal da figura 1b apresentando grau de acometimento elevado com tumores grandes com intensa ulceração. Animal em boa condição corporal. Foto do autor.

Figuras 7 e 8: Áreas cutâneas pigmentadas com marcas cicatriciais sugestivas de regressão de tumores. Foto do autor.

### 3.2 A categorização do grau de acometimento

Avaliar a FP a campo depende de metodologias que possam classificar o grau de acometimento das tartarugas de maneira que seja reproduzível. Para isso, foi proposto um método de classificação que leva em conta o tamanho e a quantidade de tumores na tartaruga, classificando-a em não acometida (grau 0) e graus 1 a 3 sendo 3 o mais severo (tabela 1) (WORK; BALAZS, 1999). Esta classificação tem sido usada amplamente nos estudos no Brasil (BAPTISTOTTE, 2007; SANTOS et al., 2010; TOREZANI et al., 2010) com limitações.

Tabela 1 - Determinação do grau de acometimento de acordo com o número e tamanho dos tumores (adaptado de Work & Balazs 1999).

Categoria de Acometimento				
	0	1	2	3
Tamanho do tumor				
1 (< 1cm)	0	1-5	>5	>5
2 (1-4cm)	0	1-5	>5	>5

3 (> 4-10cm)	0	0	1-3	>4
4 (> 10cm)	0	0	0	1

A quantidade e tamanho dos tumores são os critérios utilizados para se estabelecer o grau de acometimento por FP citado anteriormente (WORK; BALAZS, 1999). Este critério foi desenvolvido baseado na manifestação da FP no Havaí e foi posteriormente utilizado em outros estudos, inclusive aqui no Brasil (AGUIRRE et al., 2002; SANTOS, 2005; BAPTISTOTTE, 2007; HIRAMA; EHRHART, 2007; SANTOS et al., 2010; TOREZANI et al., 2010; ZWARG et al., 2014).

Rossi et al. (2009) realizaram um outro tipo de avaliação para classificação do grau de acometimento, baseado na área de pele coberta pelos tumores. Assim, classificaram as tartarugas como grau 1, levemente acometidas com até 50 cm<sup>2</sup> de cobertura. Grau 2, moderadamente acometidas de 51 a 100 cm<sup>2</sup>, e grau 3, severamente acometidas a partir de 101cm<sup>2</sup>. Esta metodologia não levou em conta a área total de pele das tartarugas, e isso pode comprometer a avaliação pois uma tartaruga grande pode ter uma cobertura percentual menor, mesmo que tenha mais tumores ou tumores maiores que outra menor. Para melhorar essa metodologia, seria interessante considerar um índice que leve em conta o tamanho do animal, não necessariamente a área total da pele exata, como por exemplo, o comprimento x a largura curvilínea do casco. Assim, a área de cobertura tumoral seria dividida pela área quadrada da carapaça, incluindo na análise um parâmetro de tamanho.

Nenhuma destas duas metodologias propostas na literatura leva em conta a condição corporal do animal. Uma tartaruga pode estar com muitos fibropapilomas grandes cobrindo grande área do corpo e estar com uma condição corporal boa, enquanto outra tartaruga pode estar em grau 1 de acometimento e caquética ou emaciada. Qualquer medida de grau de acometimento que não leve em conta a condição geral de saúde do animal, estará avaliando a manifestação da FP mas desconsiderando o seu efeito sobre o indivíduo. Esta forma de avaliação baseada na doença como parâmetro e não na relação doença-hospedeiro, sempre terá um viés que diminui a relevância e a utilidade de se fazer tal avaliação. O índice de acometimento proposto em 1999 no Havaí deve ser avaliado e adequado à situação de cada região geográfica de acordo com a realidade local (Work, T. 2013. comunicação pessoal<sup>4</sup>). Aguirre et al. (2002) modificaram a metodologia, incluindo subjetivamente na classificação do grau de acometimento o efeito dos tumores sobre a visão, respiração e alimentação, fazendo esse ajuste à realidade local.

Um estudo sobre comportamento natatório, submersão e deslocamento de juvenis de *C. mydas* conduzido no Havaí mostrou que a FP não afeta o comportamento aquático das tartarugas, apesar das acometidas ficarem menos ativas à noite que as sadias (BRILL et al., 1995). Isso demonstrou

que no grupo estudado não havia um comprometimento fisiológico cardio- respiratório ou de movimentos dos animais, mesmo com uma tartaruga caquética no grupo. Essa conclusão evidencia o caráter individual da doença sobre cada indivíduo e ressalta a importância de uma avaliação individual também.

Sugerimos que a avaliação da FP leve em conta também parâmetros, como o tamanho do animal, índice corporal, presença de FP ocular e a condição geral do animal, ou que pelo menos, sempre se teste as correlações entre o grau de acometimento com parâmetros de saúde através de testes estatísticos (HIRAMA; EHRHART, 2007). Em estudo sobre ocorrência de fibropapilomatose em Indian River Lagoon, Flórida central, foi observado que o número de tumores apresentou uma correlação com o índice corporal e que, ao contrário, o volume dos tumores oculares não apresentou correlação com este índice (HIRAMA; EHRHART, 2007). O mesmo em relação a tumores oculares foi observado no Espírito Santo (SANTOS et al., 2010). Isso vai contra o consenso geral de que o comprometimento da visão afeta muito a condição geral das tartarugas acometidas e precisa ser melhor avaliado e compreendido através de exames oftalmológicos. Muitas vezes, a necessidade de se estabelecer valores numéricos matematicamente representados (p.ex. volume dos tumores oculares - variável quantitativa) prejudica uma avaliação mais objetiva do efeito negativo sobre a visão (grau de perda da visão – variável qualitativa) que é um parâmetro mais útil para a avaliação da gravidade da doença.

### **3.3 Ocorrência de tumores viscerais e orofaríngeais associados à FP cutânea**

Outro aspecto a ser melhor pesquisado é a ocorrência de tumores internos associados à FP cutânea. Apesar de ser um achado comum (38% das tartarugas com FP) no Havá (WORK et al., 2004), não foram encontrados na Indonésia (Adnyana et al. 1997, 14% na Flórida (HERBST, 1994) com poucos relatos (ORÓS et al., 1999; CROFT et al., 2004) e um relato no Brasil (DUTRA; NASCIMENTO; FUTEMA, 2012). Os tumores internos geralmente são fibromas ou mixofibromas que ocorrem principalmente nos pulmões rins e coração e menos frequentemente no fígado, intestinos e musculatura. Possuem crescimento lento, mas que prejudicam o funcionamento normal dos órgãos, podendo comprimir as vísceras (WORK; METEYER; COLE, 2004).

<sup>4</sup> Durante a conferência da seção Latinoamericana da Wildlife Disease Association em São Paulo em 2013, pude conversar com Thierry Work sobre essa categorização e segundo ele, a metodologia proposta em 1999 não tem a pretensão de ser definitiva, mas deve ser adequada a cada situação regional ao objetivo de cada estudo.

No Brasil (BAPTISTOTTE, 2007) e na Flórida (BRESETTE et al., 2003; HIRAMA;EHRHART, 2007) é rara a ocorrência de tumores orofaríngeais associados à FP, enquanto no Havaí estes tumores são comuns (AGUIRRE et al., 2002) e comprometem muito a respiração e deglutição e estão associados à pneumonia e necrose pulmonar (WORK et al., 2004).

Essas diferenças observadas na manifestação macroscópica da FP entre regiões podem ser devidas as diferentes variantes do CHV5 e sua patogenicidade (SANTOS et al., 2010).

### **3.4 Características histopatológicas**

A fibropapilomatose é caracterizada por múltiplos papilomas, fibromas e fibropapilomas, bem como por eventuais fibromas viscerais (HERBST, 1994). As características histológicas dos tumores variam com o desenvolvimento da massa tumoral. Também há uma variação na frequência de alterações histológicas entre animais de diferentes regiões (p. ex. Flórida x Havaí) e entre tumores naturais e induzidos (HERBST et al., 1999) (tabela 2). Tanto as células epiteliais como as do estroma se apresentam hiperplásicas. Segundo Jacobson et al. (1989), os fibropapilomas consistem de uma leve a moderada hiperplasia de epiderme cobrindo uma derme hiperplásica. As lesões iniciais apresentam predominante degeneração balonosa no estrato basal, com cristas epiteliais se estendendo na derme. Agregados de células inflamatórias são presentes ao redor dos vasos dérmicos. Lesões mais maduras desenvolvem um padrão papilar arbóreo. Têm superfície menos verrucosa, e muitas vezes ulcerada, com a derme composta primariamente de fascículos colagenosos grandes e relativamente poucos fibroblastos. As alterações celulares mais comuns são acantose, ortoqueratose, degeneração de células basais, fenda dérmico-epidérmica (figuras 1 a 8). Ovos de trematódeos (Spirorchidae) são frequentemente encontrados dentro dos capilares dérmicos, envoltos por tecido granulomatoso e células gigantes e inflamatórias (HERBST et al., 1999) (figura 17). Esse achado varia geograficamente e não está relacionado à patogênese da FP. Este tema será abordado na seção etiologia da FP.

A avaliação ultra estrutural de lesões iniciais demonstraram vacúolos intracitoplasmáticos ligados à membrana dentro das células epidérmicas no estrato basal, contendo partículas com centros eletrondensos medindo 155 a 190 nm. Vacúolos similares são observados nos espaços intercelulares epidérmicos e na derme (JACOBSON et al., 1989).

Corpúsculos de inclusão epidérmicos (EIs – Epidermal Intracellular Inclusions) são encontrados nas células epiteliais de fibropapilomas com maior frequência em tumores iniciais (figura 18). Neles ocorre a replicação do ChHV5 e são fontes de vírus para a disseminação e transmissão (WORK et al., 2014b).

Diversos autores relataram as características histopatológicas da FP em geral espelhando

um padrão bem definido de lesão mesmo de órgãos internos (NORTON; JACOBSON; SUNDBERG, 1990; BRESETTE et al., 2003) e nos tumores oculares (figuras 19 e 20) (BROOKS et al., 1994).

Tabela 2. Frequência relativa de achados histológicos em fibropapilomas de tartarugas-verdes espontâneos e experimentalmente induzidos. Traduzido de Herbst et al. (1999).

Frequência relativa			
Características	Havaí(n=53)	Flórida(n=119)	Tumores induzidos experimentalmente (N=75)
<b>Achados histopatológicos</b>			
Proliferação dérmica	100	100	100
Acantose	96.2	93.3	100
Ortoqueratose	73.6	84.9	97.2
Degeneração de células basais	77.4	90.8*	73.3
Fenda dermo-epidérmica	50.9	54.6	54.7
Degeneração da camada espinhosa	15.1	25.2	78.7†
Pústula intraepidérmica	17.0	18.5	30.1
Erosão ou ulceração	35.8	38.7	44
<b>Inflamação</b>			
Granulócitos	32.1	47.9	53.3
Granuloma por corpo estranho	50.9	40.3	0 †
Linfócitos perivasculars	58.5	73.1	61.3
<b>Patógenos potenciais</b>			
Inclusões intranucleares	0	1.7	18.6†
Antígenos herpesvirais‡	0	7.5*	47.4†§
Ovos de Spirorchidae	50.9	30.3*	0†
<b>Epibiota</b>			
Bactérias e procariotos	66.0	46.2*	74,5
Fungos e algas	32.1	6.7*	
Metazoários	18.9	7.6*	1.3

\* Tumores das tartarugas da Flórida foram significativamente diferentes dos tumores das tartarugas do Havaí (Teste qui-quadrado).

† Tumores experimentalmente induzidos foram significativamente diferentes dos tumores de tartarugas da Flórida e Havaí. (Teste qui-quadrado).

‡ Achados dos testes imunohistoquímicos (método do complexo biotina-avidina-peroxidase).

§ 38 tumores experimentalmente induzidos foram testados.

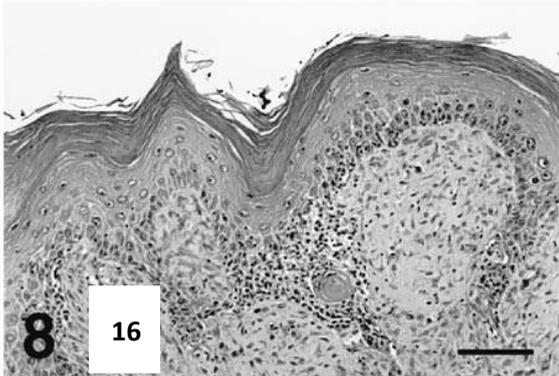
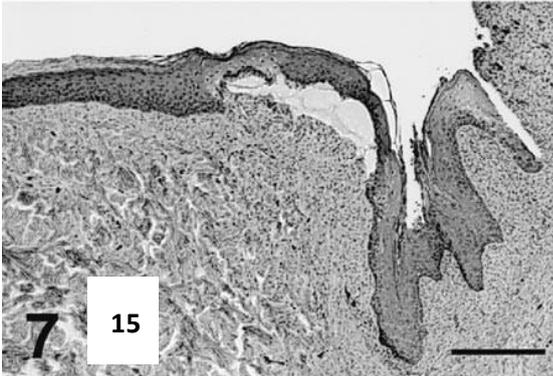
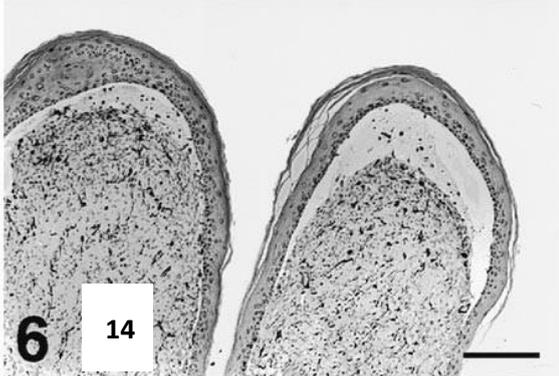
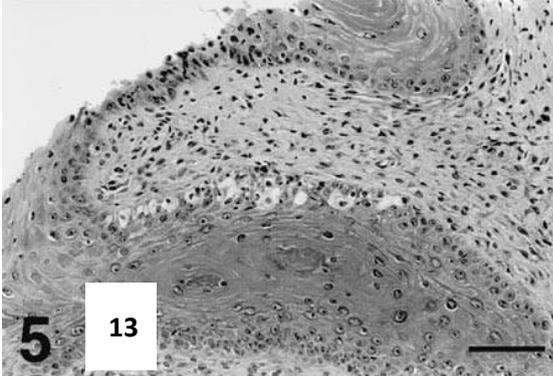
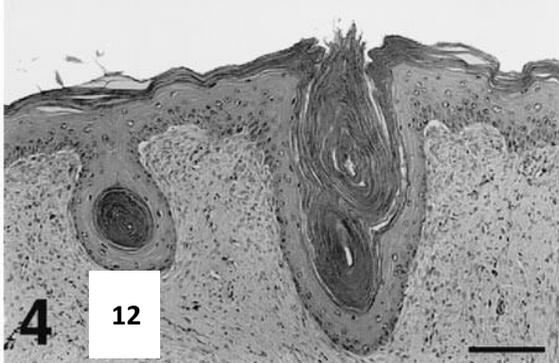
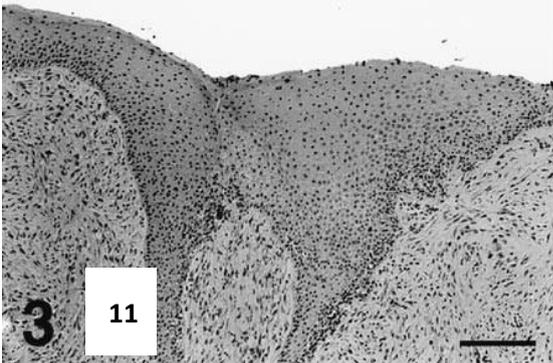
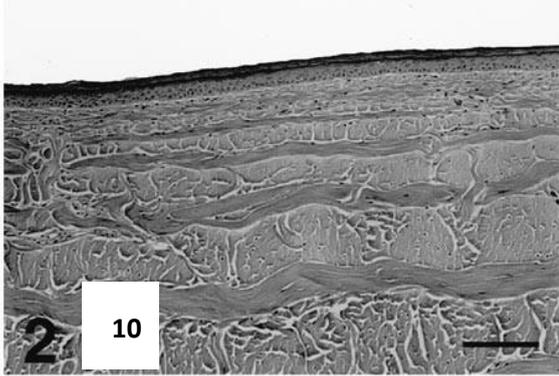
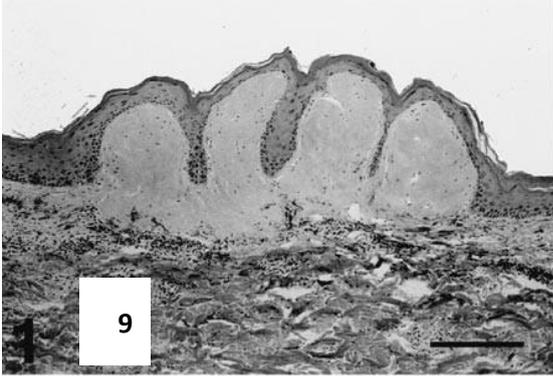


Figura 9. Fibropapiloma cutâneo. Hiperplasia epidérmica papilar e proliferação fibrosa na derme papilar com fina zona e transição para a derme reticular subjacente, que está infiltrada por células mononucleares. HE. Bar = 300 µm.

Figura 10. Pele; tartaruga-verde. Epiderme normal tem 4 a 7 células de espessura. Derme normal tem uma fina zona papilar HE. Bar = 200 µm.

Figura 11. Fibropapiloma conjuntival; tartaruga-verde. Marcada hiperplasia dermal com ausência de hiperqueratose ortoqueratótica. HE. Bar = 200 µm.

Figura 12. Fibropapiloma cutâneo; tartaruga-verde. Marcada acantose e hiperqueratose ortoqueratótica com inclusão cornificada. HE. Bar = 200 µm.

Figura 13. Fibropapiloma cutâneo; tartaruga-verde. Degeneração balonosa focal de células basais e formação de fenda dérmico-epidérmica. HE. Bar = 100 µm.

Figura 14. Fibropapiloma cutâneo; tartaruga-verde. Separação da epiderme com a derme subjacente ao longo da membrana basal com material eosinofílico acumulando dentro da fenda. HE. Bar = 200 µm.

Figura 15. Fibropapiloma cutâneo; tartaruga-verde. Lesão induzida experimentalmente evidenciando fenda dérmico-epidérmica com degeneração focal nas camadas superficiais da epiderme e material eosinofílico acumulado dentro da fenda. HE. Bar = 300 µm.

Figura 16. Fibropapiloma cutâneo; tartaruga-verde Alterações esponjosas ao longo da membrana basal com infiltrado linfocitário difuso. HE. Bar = 150 µm.

Extraído e adaptado de (HERBST et al., 1999).



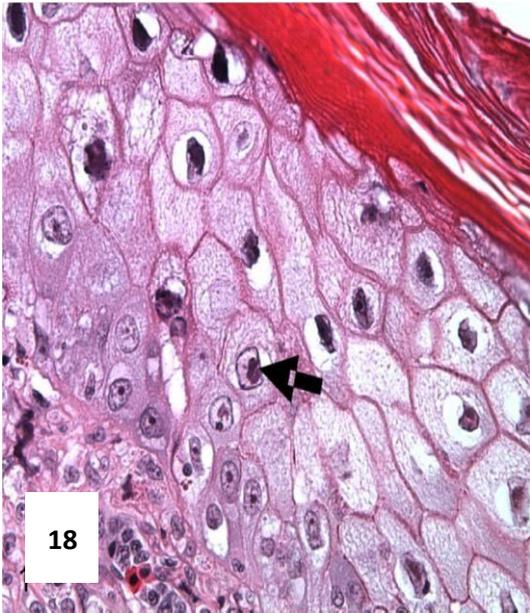


Figura 17: 3a. Corte histológico de fibropapiloma de tartaruga verde (*C.mydas*). HE, 40x. Ovo de trematoda (Spirorchidae) (seta azul) dentro de vaso sanguíneo em meio a fibroblastos na derme (hexágono). Extraído de Zwarg et al., 2014.

Figura 18: Fibropapiloma, pele, *C. mydas*, HE. Degeneração balonosa de células epiteliais com corpúsculos de inclusão (seta preta) (EII: epidermal intranuclear inclusion) onde ocorre a replicação lítica do ChHV5. Extraído de Work et al. (2014).

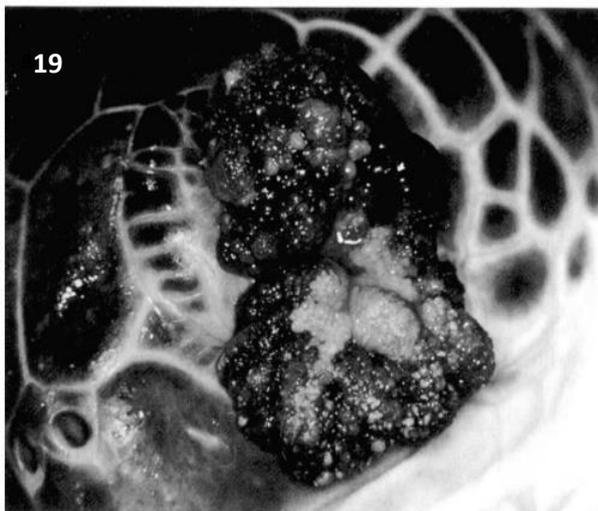


Figura 19: Fibropapiloma ocular, tartaruga-verde. O olho está obliterado por um fibropapiloma verrucoso, protuso e pigmentado.

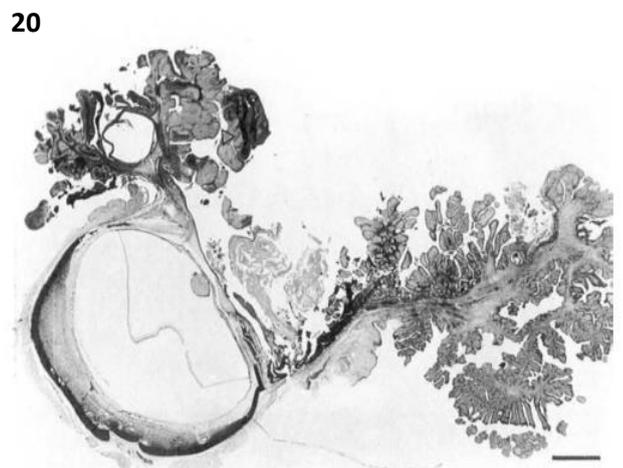


Figura 20: Córnea, tartaruga verde. Massas endofíticas nodulares com centros cavitários em fibropapiloma ocular. Extraído de Brooks et al.(1994).

## 4. EPIDEMIOLOGIA DA FIBROPAPILOMATOSE

### 4.1 Etiologia

A década de 1990 foi importante para os estudos sobre a etiologia da FP. Com os estudos liderados por Lawrence Herbst, Elliott Jacobson e Paul Klein nos EUA, a participação de um vírus foi confirmada e também se conseguiu promover a infecção experimental em *C. mydas* através da injeção de um extrato sub-celular do tumor. Com isso, duas certezas vieram à tona: a doença é infecciosa e envolve um novo herpesvirus (HERBST et al., 1995a, 1995b, 1998, 1999). Outros pesquisadores tentaram isolar algum agente bacteriano ou viral dos tumores, mas sem sucesso (AGUIRRE et al., 1994b). Persistia ainda a dúvida sobre a participação de espiroquídeos frequentemente encontrados nos tumores, no desenvolvimento da doença.

Dailey & Morris, (1995) fizeram um estudo extenso sobre os parasitos encontrados nos tumores. Isolaram ovos de todos os 61 tumores usados no estudo, inocularam os ovos extraídos em outras tartarugas e as observaram por 12 meses. Apesar de não terem conseguido reproduzir a doença, a alta prevalência de ovos de parasitas nos tumores não permitiu excluir sua participação no desenvolvimento da doença. Simultaneamente, o grupo da Universidade da Flórida, realizando estudos sorológicos por ELISA<sup>5</sup> demonstraram que não havia correlação entre a ocorrência de anticorpos contra antígenos de espiroquídeos adultos e a ocorrência de fibropapilomas, mas encontraram uma alta correlação entre anticorpos anti-herpesvírus e a FP. Além disso, tartarugas que desenvolveram tumores experimentalmente tiveram soro-conversão para herpesvirus positivas até um ano após o surgimento dos tumores, enquanto as que não desenvolveram permaneceram negativas, reforçando a tese de que a causa da FP estaria relacionada ao herpesvirus (HERBST et al., 1995a). A associação FP x Spirochidae continuou sendo estudada, pois mesmo sem haver uma correlação causal entre as doenças, a alta prevalência de espiroquidíase e sua ocorrência simultânea com a FP pode contribuir para agravar o quadro debilitante nas tartarugas acometidas (AGUIRRE et al., 1998).

Os estudos sobre transmissão da FP evoluíram com sucesso. Foi conseguida a indução da FP através da inoculação por escarificação ou injeção de um filtrado subcelular de extrato de tumor em tartarugas juvenis criadas desde neonatas em cativeiro. Com isso foi demonstrado que a FP era causada por um agente infeccioso sub-celular e que, possivelmente, um “herpesvirus-like” identificado por microscopia eletrônica seria este agente (HERBST et al., 1995c). As características histopatológicas dos tumores induzidos e naturais eram basicamente semelhantes (HERBST et al., 1999). Sabia-se também que o agente era inativado com clorofórmio, sugerindo que possuía uma estrutura lipídica como um envelope (HERBST et al., 1996).

Em 1996, com uso de biologia molecular, as evidências apontavam para a existência de um alfa-herpesvírus específico de tartarugas marinhas (HERBST et al., 1998). As pesquisas para se descobrir qual vírus estava associado à FP evoluíram e foi detectado por PCR um novo herpesvírus (CHV – Chelonid Herpes Virus) cuja sequência de DNA variava entre regiões geográficas (Flórida x Havá) e entre espécies, sendo que o encontrado em *C. caretta* e *C. mydas* eram diferentes dos de *L. olivacea* (QUACKENBUSH et al., 1998). O vírus foi encontrado principalmente nos tumores, pulmão, gônadas e pele de animais acometidos e não foi encontrado em tecidos de tartarugas sadias. Posteriormente, através da técnica de hibridização *in-situ*, detectou-se o DNA da polimerase viral e a sua replicação dentro das células epiteliais e não nas áreas fibrosas dos tumores e ainda que este era transcricionalmente ativo (KANG et al., 2008).

Ainda na tentativa de encontrar o agente viral causador da FP, em 1997 foi proposto um retrovírus. Um estudo detectou atividade de transcriptase reversa pela técnica PERT<sup>6</sup> em amostras de tumores, além de partículas sugestivas de retrovírus à microscopia eletrônica e por SDS-PAGE<sup>7</sup> de partículas virais obtidas em gradiente de sucrose.

Porém os autores foram cautelosos em não afirmar que um retrovírus fosse o agente causal da FP. A metodologia utilizada não permitia distinguir qual retrovírus estava sendo analisado e também pelo fato destes serem amplamente distribuídos na natureza. Além disso, a falta de conhecimento das características epidemiológicas da doença não permitiam uma afirmação precisa (CASEY et al., 1997). Os estudos subsequentes progressivamente avançaram com evidências mais robustas da participação de herpesvírus e não houve mais estudos sobre a participação de um retrovírus.

Os achados sobre a relação da FP com herpesvírus foram recorrentes, evidenciando uma forte correlação de achados de DNA herpesviral em tumores e em tecidos de tartarugas acometidas. Porém, as tentativas de cultivar o vírus, mesmo em células de tartarugas não obtiveram sucesso (KLEIN et al., 1998; LACKOVICH et al., 1999) e com isso, o cumprimento do postulado de Koch, permanece incompleto, apesar de todas as evidências.

Os estudos sorológicos sobre o LETV (lung-eye-trachea disease vírus) conseguiram distinguir este do que à época era conhecido como FPHV (fibropapillomatosis associated herpesvírus), ou seja que eram dois patógenos distintos e que as doenças não possuíam correlação (COBERLEY et al., 2001a, 2001b). O LETV é capaz de manter a infectividade por até 5 dias em água do mar, indicando a possibilidade de herpesvírus de tartarugas-marinhas serem transmitidos por contato ou pela água (CURRY et al., 2000).

---

<sup>5</sup> Enzyme Linked Immunosorbent Assay (enzimaimunoensaio)

Estudos sobre a etiologia continuaram elucidando a participação do herpesvirus na FP. Através de métodos moleculares por PCR, o DNA viral foi encontrado em diversos tecidos além dos tumores de tartarugas com FP e não foram detectados em tartarugas sem FP (LU et al., 2000b). Simultaneamente, conseguiu-se induzir a formação de “tumores” in vitro, pela inoculação de filtrados livres de células em células cultivadas de tartarugas-marinhas (LU et al., 2000a) e posteriormente, o sequenciamento do cDNA viral e a identificação da replicação viral em tumores (LU et al., 2003). Não demorou muito e o FPTHV – fibropapilloma-associated turtleherpesvirus, foi classificado na subfamília Alphaherpesvirinae e foram identificadas 4 variantes pacífico central (Havaí), pacífico-oeste (Austrália), Pacífico-leste (Costa Rica e Califórnia) e atlântico (Florida e Barbados), sugerindo que o vírus já existia muito antes da pandemia de FP (NIGRO et al., 2004; NIGRO; AGUIRRE; LU, 2004; GREENBLATT et al., 2005). A partir do sequenciamento do gene UL28, de uma proteína montadora ICP18.5 do GTHV, foi proposto que esta proteína recombinante poderia ser usada como antígeno altamente específico para fins de imunodiagnóstico (NIGRO; AGUIRRE; LU, 2004).

<sup>6</sup> PERT: Polimerase Enhanced Reverse Transcriptase

<sup>7</sup> SDS-PAGE: Sódio-duodecil sulfato – Eletroforese em gel de poliacrilamida.

O vírus foi classificado como da família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero Scutavirus e foi chamado de Chelonid herpes virus 5 (ChHV5) (ICTV, 2011), mesmo nunca tendo sido cultivado com sucesso.

## 4.2 Filogeografia do ChHV5

A análise molecular filogenética do C-FP-HV<sup>8</sup> de tartarugas da Flórida encontrou 5 variantes, sendo 3 bem semelhantes (FL-A, FL-B, FL-C), uma com 5,6 % de divergência (FL-D) em *C. caretta* da Flórida e outra variante do Havaí (HA) com 2,2 % de divergência das FL-A, B e C. A variante FL-A foi encontrada em *C. mydas* e *C. caretta* e a variante C em *C. caretta* e *L. kempii*, demonstrando haver uma troca de variantes entre espécies simpátricas. Sob a hipótese de que os herpesvírus co-evoluem com seus hospedeiros, os autores estimaram que as variantes virais se formaram entre 1,6 a 4 milhões de anos e que por isso, a FP não surgiu devido a uma mutação recente no vírus, pois seria muito improvável que ocorresse em todas as variantes ao mesmo tempo e, tampouco, pela disseminação de uma variante super virulenta e que certamente fatores ambientais tem um papel importante no surgimento da doença (HERBST et al., 2004).

Outro estudo sobre evolução do vírus desconsiderando propositalmente a co- evolução, encontrou uma taxa evolutiva de  $1,62 \times 10^{-4}$  a  $2,22 \times 10^{-4}$  substituições por locus por ano, com um tempo para o ancestral comum mais recente (TMRCA) do ChHV5 de 192,9 a 429,71 anos, ou seja, saindo da escala de milhares a milhões de anos como proposta anteriormente, para de centenas. A taxa

evolucionário do vírus encontrada foi mais rápida do que o esperado não respeitou a taxa em escala co-evolucionária com o hospedeiro. É possível que a pandemia tenha acelerado a taxa evolucionária devido a maior taxa de replicação e transmissão. De qualquer forma, o surgimento das variantes atuais precede a pandemia, indicando que os fatores ambientais devem ter sido responsáveis pelo seu surgimento, e não uma mutação supervirulenta (PATRÍCIO et al., 2012).

Alfaro-Núñez et al. (2014) discutem aspectos da co-evolução vírus-hospedeiro e latência. A co-evolução explica a longa existência do vírus e sua presença disseminada globalmente e a alta especialização do vírus ao hospedeiro. Os herpesvirus oncogênicos, normalmente provocam tumores em tecidos específicos, mas podem ficar latentes em outros tecidos, especialmente o nervoso. A latência ou seja, infecção crônica na qual o indivíduo mantém o DNA viral ou partículas virais inteiras por toda a vida, com esporádicas replicações e manifestações clínicas, é controlada por genes cuja expressão protege o genoma viral do sistema imune do hospedeiro.

A validação de uma técnica de singleplex PCR com 3 conjuntos de primers mostrou três vezes mais sensível que o nested-PCR mais utilizado nos estudos do ChHV5 (ALFARO-NÚÑEZ; GILBERT, 2014) e permitiu verificar que ao contrário do que se pensava antes, o vírus ocorre sim em aproximadamente 15% dos animais sadios das diversas espécies acometidas por FP, confirmando a teoria da latência do ChHV5.

No Brasil inicialmente foi detectada a variante Atlântica (Rodenbusch et al. 2012) que é a mesma que ocorre em Porto Rico e no Golfo da Guiné (PATRÍCIO et al., 2012). Como a assembleia de *Chelonia mydas* juvenis brasileira possui haplótipos de diversas áreas de nidificação, é possível que haja um fluxo gênico viral desde o Caribe através da corrente do Brasil ou da Ilha de Ascensão ou do Golfo da Guiné pela corrente sub-equatorial. Posteriormente foram detectadas 6 variantes virais no Brasil pertencentes ao grupo Atlântico (Porto Rico, Golfo da Guiné), Atlântico oeste e Caribe leste (figuras 21 e 22) (RODENBUSCH et al., 2014). A ocorrência destas variantes combina com a dos haplótipos de DNA mitocondrial e nuclear de *Chelonia mydas* juvenis encontrados no Brasil sendo a maioria proveniente da ilha Ascensão, Costa Rica e Caribe (Suriname e Aves) com contribuições menores de outras áreas como Ilha de Trindade, México e Golfo da Guiné (NARO-MACIEL et al., 2007).

<sup>8</sup> C-FP-HV, FHV, FPHV, CHV, FPTHV são diversas siglas utilizadas para denominar o herpesvirus associado à fibropapilomatose. Recomendamos utilizar a sigla ChHV5 definida pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus.

Apesar das evidências da associação causal com o herpesvírus, isto somente não explicaria as características ecológicas já conhecidas da FP, como por exemplo, afetar principalmente juvenis, ocorrer em áreas costeiras mais poluídas e a grande variação na prevalência em áreas geográficas próximas (HERBST, 1994) além da possibilidade de regressão em alguns animais (BENNETT; KEUPER-BENNETT; BALAZS, 1999). Estas características epidemiológicas somadas às evidências filogenéticas citadas anteriormente, como o tempo de existência do vírus antes do início da pandemia, implicam em que fatores ambientais contribuíram para o surgimento da doença e sua evolução rápida e pandêmica. Esses fatores serão abordados da seção sobre características ambientais mais adiante.

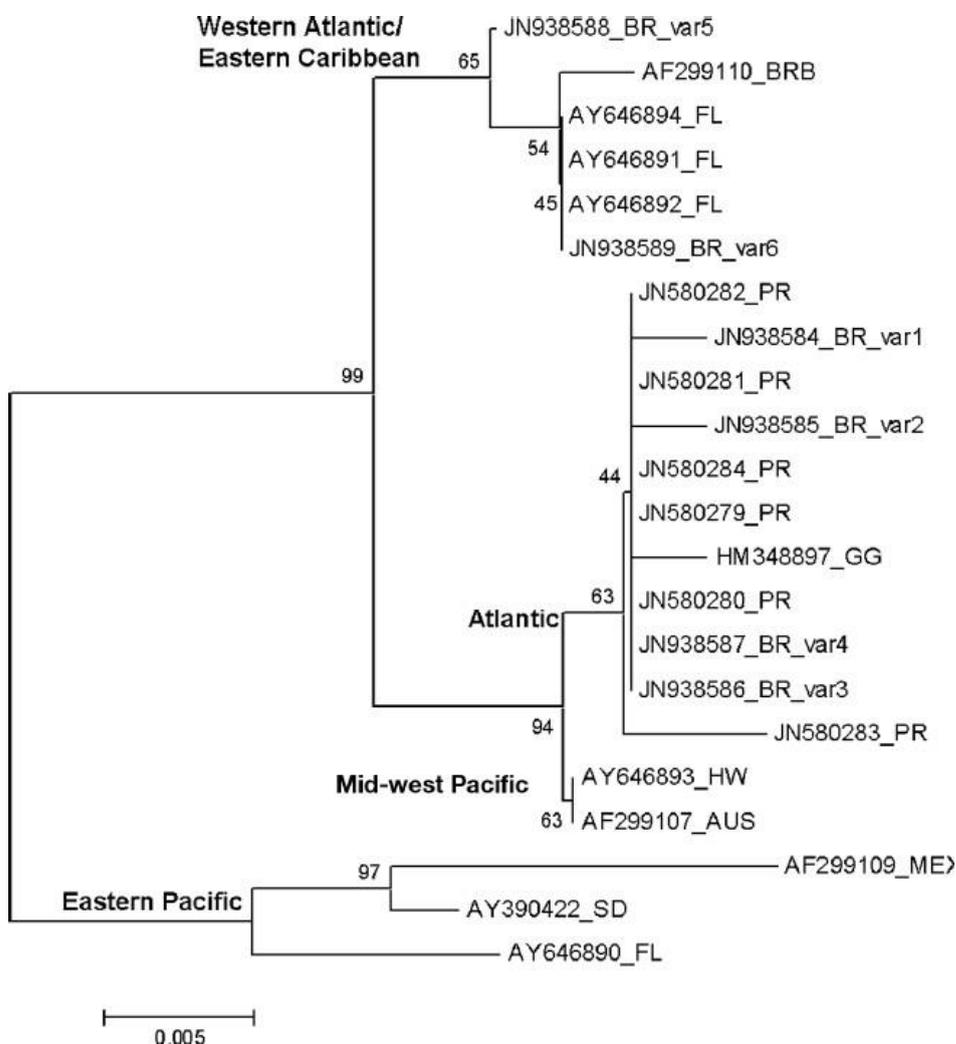


Figura 21: Árvore filogenética de nucleotídeos do gene da DNA polimerase do ChHV5 usando o método de distâncias de agrupamento de vizinhos, com 1000 réplicas “bootstraps”. Sequências foram geradas por Rodenbusch et al. (2014) ou obtidas do GenBank. HW: Havaí, EUA. MEX: México; FL: Flórida, EUA; PR: Porto Rico; BRB: Barbados; AUS: Austrália; SD: São Diego, EUA; GG: Golfo da Guiné; BR: Brasil. Retirado de (RODENBUSCH et al., 2014).

O conhecimento da filogeografia do ChHV5 poderá ser aprimorado com estudos que incluam amostras colhidas ao longo de maior período (décadas), mais áreas geográficas como o Mar Mediterrâneo, a costa Africana, a costa oeste do Atlântico Sul, o Oceano Índico e mais regiões no hemisfério norte no Pacífico oeste (figura 6). O descobrimento de novas áreas de reprodução e da estrutura populacional de *C. mydas* também poderá enriquecer os modelos genéticos e aprimorar o conhecimento da sua filogeografia.

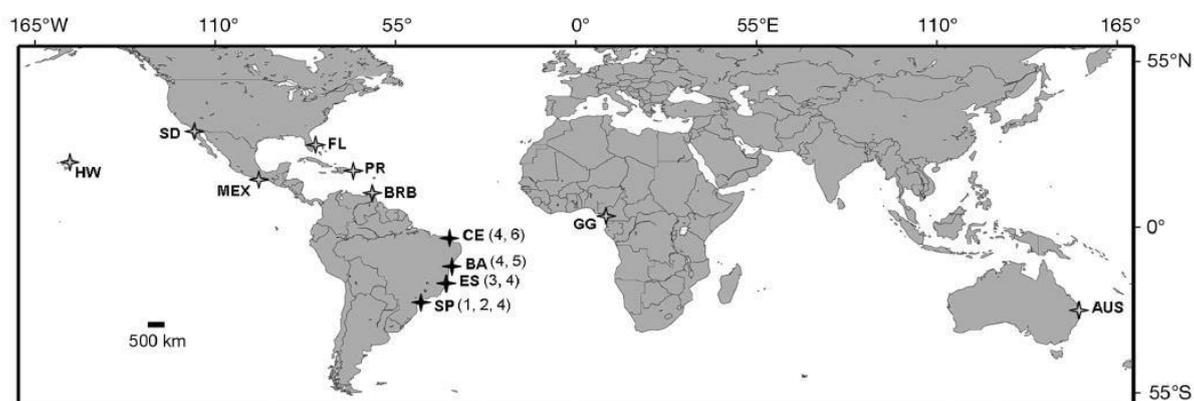


Figura 22: Locais onde foram encontradas as variantes virais do ChHV5. Estrelas cinzas dados provenientes do Genbank. Estrelas pretas, amostras analisadas non Brasil. Percebe-se a falta de informações na região do indo-pacífico, mediterrâneo e oeste-Atlântico. FL- Flórida; SD-San Diego; HW – Havaí; MEX – México; PR – Porto Rico; - BRB – Barbados; AUS – Austrália; GG – Golfo da Guiné; CE – Ceará; BA – Bahia; ES – Espírito Santo; SP - São Paulo. Extraído de Rodenbusch et al. (2014).

### 4.3 Transmissão, hospedeiros intermediários e vetores

Os estudos sobre transmissão da FP confirmaram a suspeita baseada em evidências epidemiológicas de que a doença era transmissível e posteriormente, comprovou-se a participação do Chelonid Herpesvirus 5 na sua etiologia. Porém há poucos estudos que demonstrem como a doença se dissemina no ambiente natural (WORK et al., 2014b). Qualquer hipótese de mecanismo de transmissão continua possível uma vez que nenhuma foi efetivamente confirmada.

Uma das primeiras hipóteses postuladas sugeria a participação de algum hospedeiro intermediário ou vetor mecânico. Culturas bacterianas e virais, exames histopatológicos e exame de ectoparasitos e epibiontes em tumores e nas tartarugas não indicaram, nenhuma participação de qualquer agente na etiologia da doença (AGUIRRE et al., 1994b). Posteriormente, para verificar essa

hipótese, diversos organismos foram testados quanto a presença de DNA de herpesvírus. Os primeiros foram os peixes limpadores *Talassomaduperrey* observados mordiscando tumores de tartarugas no Havaí (LU et al., 2000c) onde foi encontrado DNA do gene pol do GTFP por PCR simples. O peixe foi proposto como candidato a vetor mecânico do vírus entre tartarugas. Fazer esse tipo de associação apenas por encontrar opatógeno no organismo candidato pode não ser adequado, pois o simples achado não implica em meios para transmissão.

Greenblatt et al. (2004) analisaram diversos endo e ectoparasitas de *C. mydas* em busca de DNA viral por qPCR o que permitiu verificar que as sanguessugas do gênero *Ozobranchus spp.* continham um número de cópias do vírus compatível com o que era encontrado nos tumores, indicando que este organismo poderia ser um vetor mecânico do vírus. Estas sanguessugas marinhas e seus ovos são encontradas com relativa frequência em tartarugas marinhas debilitadas e portadoras de fibropapilomas (observação pessoal) (HERBST, 1994; LOUREIRO; MATOS, 2009). À época não havia confirmação de viremia pelo ChHV5, o que levou os autores a interpretar que a sanguessuga se infectasse por contato com epitélio infectado e funcionasse apenas como um vetor mecânico. Hoje sabemos que a viremia ocorre, portanto a sanguessuga poderia ser considerada um hospedeiro intermediário, infectando-se ao ingerir sangue. De qualquer forma, o artigo não incluiu possíveis mecanismos de transmissão, levando-se em conta que os ciclos biológicos das sanguessugas *O. margoi* e *O. branchiatus* completam-se no mesmo hospedeiro. Até o momento, não se definiu se há de fato a participação de algum vetor ou hospedeiro intermediário.

Não se exclui também a possibilidade de transmissão direta via água já que sabe-se que herpesvírus de tartarugas-marinhas permanecem infectantes por até 5 dias na água em condições ambientais (CURRY et al., 2000). Estudos genéticos sobre a filogeografia global (não incluindo a América do Sul) do ChHV5 sustentam a hipótese de que a transmissão do vírus ocorra em fase nerítica após a fase pelágica e o recrutamento em áreas de alimentação (PATRÍCIO et al., 2012). A relativa homogeneidade das variantes em uma mesma região e as diferenças observadas em escalas geográficas maiores (ENE et al., 2005) além da rápida divergência das variantes, associado ao fato do vírus ser transmissível (HERBST et al., 1995c) são os fatos que indicam que a transmissão ocorra entre indivíduos em áreas de alimentação na costa.

A transmissão vertical, ou seja, da mãe para a prole não foi devidamente estudada ainda. Em recente estudo, foi verificada a presença de DNA de ChHV5 em 1 fêmea entre 41 analisadas. Foram analisados também 59 filhotes de 6 diferentes ninhos, inclusive da fêmea positiva, e foram negativos. Mais estudos com números amostrais maiores, além de avaliação dos ovos poderão elucidar melhor se há transmissão vertical (ALFARO-NÚÑEZ et al., 2014).

As evidências de um possível fluxo gênico viral entre áreas geográficas longínquas foi verificado pela semelhança genética entre as variantes virais de Porto Rico e do Golfo da Guiné. Estas duas áreas são ligadas pela corrente sub-equatorial responsável pela dispersão de filhotes no sentido leste-oeste da África para o Brasil e Caribe. O retorno de indivíduos adultos portadores no sentido oeste-leste de volta para áreas de reprodução do Golfo da Guiné poderia explicar o fluxo gênico (PATRÍCIO et al., 2012). O mesmo foi verificado entre Turks e Caicos, no Caribe, e Portugal (ALFARO-NÚÑEZ et al., 2014).

A latência verificada do ChHV5 (ALFARO-NÚÑEZ et al., 2014) implica na adoção de medidas sanitárias rigorosas nos locais que mantêm animais em cativeiro e fazem reabilitação de tartarugas com FP. O tratamento cirúrgico realizado para remoção dos tumores antes da soltura ocorre em diversos locais no Brasil e no mundo. O tratamento e a aparente remissão da doença não previne que o animal continue infectado e que eventualmente dissemine o vírus. Isso representa um risco real de contaminação especialmente nos animais de cativeiro onde as condições de manejo geralmente propiciam a contaminação cruzada por fômites e pelo contato entre os animais. Da mesma forma, trabalhos de campo com captura e marcação podem promover a infecção cruzada entre animais saudáveis e doentes.

Recentemente foi proposto que a disseminação do ChHV5 ocorra por “superdisseminadores”, ou seja, indivíduos que possuem altas taxas de replicação lítica do vírus nas células epiteliais e que portanto possuem maior possibilidade de transmitirem o vírus. Geralmente são tartarugas que possuem muitos tumores iniciais, pois estes possuem as maiores taxas de replicação (WORK et al., 2014b). Isso explicaria em parte a alta prevalência de FP em áreas com alta densidade populacional de tartarugas, o que em geral coincide com as áreas poluídas e com maior produtividade primária e conseqüente maior abundância alimentar (SANTOS et al., 2010). Porém, o mecanismo de transmissão entre o portador e o receptor ainda não está claro. A transmissão direta pela água ou pelo ambiente subjacente à tartaruga portadora parece improvável dada a escassez de tumores com vírus replicantes e no número de superdisseminadores. Portanto, mais pesquisas são necessárias para verificar o papel de possíveis vetores e hospedeiros intermediários (até o momento peixes limpadores e sanguessugas) na amplificação do potencial de transmissão (WORK et al., 2014b).

#### **4.4 Prevalência<sup>9</sup> e distribuição**

A partir da década de 1980, constatou-se que a FP assumiu um comportamento epidemiológico pandêmico, ocorrendo em praticamente todas as áreas de ocorrência de tartaruga marinhas (ALFARO-NÚÑEZ et al., 2014). As tartarugas são circuntropicais ocorrendo em todos os oceanos e apresentam uma história de vida complexa associada à sua biologia reprodutiva (GOMES;

SANTOS; HENRY, 2007). Ocupam diferentes áreas ao longo de seu ciclo biológico. Ao nascerem migram para áreas oceânicas onde passam os primeiros anos de vida. Posteriormente, migram para áreas de alimentação onde podem ser residentes por períodos de meses a anos durante a fase juvenil, que dura em torno de 25 a 30 anos. Durante esta fase podem se distribuir em áreas geográficas muito amplas (BOWEN; KARL, 2007).

Para se ter uma ideia, a maioria dos haplótipos de tartarugas-verdes encontradas no sudeste brasileiro são provavelmente provenientes da ilha de Ascensão, localizada no meio do oceano Atlântico a aproximadamente 2900 Km do estado de Pernambuco e à mesma distância de Angola na África. Também está a 3700 Km em linha reta da cidade de Ubatuba, São Paulo, um dos locais onde as tartarugas provenientes de Ascensão foram amostradas para análise filogenética (NARO-MACIEL et al., 2007). Nesse percurso, as tartarugas juvenis passam por ambientes com diferentes graus de risco antrópico ao longo da costa.

Ao chegarem na idade reprodutiva, retornam para a região de seu nascimento, empreendendo migrações transoceânicas. Na fase juvenil forma aglomerações que contém assembleias de haplótipos diversos originados de diferentes sítios reprodutivos (BOWEN; KARL, 2007). Com toda essa movimentação, seria de se esperar que a FP não assumisse prevalências e manifestações clínico-patológicas diferentes entre regiões geográficas, mas que fosse homogênea, ao menos dentro da mesma bacia oceânica. Apesar disso, as variantes genéticas do ChHV5 assumem uma distribuição compatível com as do seu hospedeiro, indicando que as tartarugas carregam o vírus entre as áreas de reprodução e alimentação depois de se infectarem na fase juvenil quando chegam da fase oceânica nas áreas de alimentação (ENE et al., 2005; PATRÍCIO et al., 2012). Com isso, apesar das características gerais da doença serem semelhantes, há diferenças geográficas na manifestação e na epidemiologia da doença, que certamente estão ligadas às variantes virais existentes e as características ambientais de cada local.

A prevalência da FP é muito variável, mesmo entre localidades relativamente próximas. Como exemplo, na região central da península da Flórida, na laguna Indian River, umas das áreas onde a FP é mais estudada, três aglomerações de *C. mydas* próximas, apresentam prevalências de 61% (310) na laguna, 14,8% (n=256) próximo a um porto na costa com passagens para a laguna e 0% (n=82) em um recife em mar aberto. Os três locais se distinguem especialmente quanto à hidrodinâmica sendo a laguna menos e o recife mais sujeitos a marés ecorrentes (HIRAMA; EHRHART, 2007).

<sup>9</sup> Por prevalência entende-se o número de casos de uma doença identificados em uma população em um dado período. Não se aplica o termo incidência pois refere-se apenas ao número de novos casos em uma população em um dado período. Os estudos de FP de maneira geral não podem distinguir casos novos na população devido as características do estudo a campo no ambiente marinho e a dinâmica populacional de tartarugas-marinhas. Por isso o termo prevalência é mais adequado.

No Brasil não há estudos que comparem a prevalência em áreas próximas apesar de existirem diferenças locais já identificadas (SANTOS et al., 2010; TOREZANI et al., 2010), mas as diferenças na prevalência de FP são mais gritantes entre regiões geográficas distantes, como por exemplo, 58,3% (n=211) no Espírito Santo, em uma enseada urbana (SANTOS et al., 2010) e a ausência nas três principais ilhas oceânicas (Atol das Rocas, Trindade e Fernando de Noronha (BAPTISTOTTE, 2007). Esta característica de maior prevalência em áreas próximas a regiões urbanas é uma característica comum da FP (HERBST, 1994; ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997) e revela sua correlação com a degradação ambiental (AGUIRRE; LUTZ, 2004).

Entre os estados brasileiros, o Ceará com 36,9%, Rio Grande do Norte 31,4% e o Espírito Santo com 27,4% são os que tiveram maior prevalência entre 2000 e 2005. Na Bahia a prevalência foi de 15,8%, no Rio de Janeiro de 5,96%, Sergipe, 18,46% e São Paulo, 10,73 % (BAPTISTOTTE, 2007). Nesse período a FP apresentou uma leve tendência de declínio na prevalência, porém o período é curto para se estimar o comportamento da epizootia (BAPTISTOTTE, 2007).

No Havaí a prevalência varia de 0 a 92% (BALAZS; POOLEY, 1991), mas a FP apresenta uma curva epidêmica típica em Molokai, crescente de 1982 até a metade da década de 1990 e decrescente em diante até 2007 (CHALOUPKA; BALAZS; WORK, 2009). Essa curva epidêmica foi confirmada quando se analisou dados de todo o arquipélago até 2010, mas com áreas estáveis, com diminuição ou aumento quando analisadas isoladamente (VAN HOUTAN; HARGROVE; BALAZS, 2010). Na Flórida, a prevalência cresceu em tartarugas encalhadas entre 1980 e 1990, em uma taxa de 1,2% ao ano e triplicou em 10 anos (FOLEY et al., 2005). Em toda a costa leste Americana, a prevalência variou entre 11 a 52%, com maior prevalência no Golfo da Flórida (52%) e nas áreas de águas abrigadas (lagunas) do que na costa oceânica do Atlântico (39% x 14,6%).

## 5. CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS ASSOCIADAS À FP

Um dos aspectos mais intrigantes da epidemiologia da FP é a sua alta prevalência associada a locais mais poluídos, atribuindo à doença uma associação indiscutível com a qualidade ambiental (VAN HOUTAN; HARGROVE; BALAZS, 2010). Essa ocorrência tornou a FP um indicador da qualidade ambiental e fez da *C. mydas* uma espécie sentinela (AGUIRRE et al., 1994b; AGUIRRE; LUTZ, 2004).

Uma questão que gera dúvida é se seria possível correlacionar parâmetros dos animais ao local em que são encontrados. Como as tartarugas são migratórias, o estudo da influência das características de determinado local seria considerado inadequado, já que as tartarugas estariam sempre em trânsito e, portanto, parâmetros bioquímicos e toxicológicos não poderiam ser

correlacionados com o ambiente em um determinado local. Porém, na Austrália as tartarugas-verdes juvenis (de 5 a 10 anos) podem ter alta fidelidade por décadas em uma área de alimentação, ficando susceptíveis aos impactos antrópicos relativos a essa área (Chaloupka, Limpus e Muller, 2004 apud Arthur, Limpus, et al. 2006). No Havaí também exibem esse comportamento (VAN HOUTAN; HARGROVE; BALAZS, 2010). No Brasil, estudos demonstram que as características ambientais locais se refletem na dieta de tartarugas-verdes, alterando aspectos nutricionais e de saúde como a prevalência de fibropapilomatose (SANTOS et al., 2010, 2011). Nosso grupo encontrou concentrações decrescentes de fósforo plasmático entre três áreas de alimentação com grau decrescente de eutrofização (Santos et al. dados não publicados). Portanto, podemos considerar que os parâmetros de saúde e toxicológicos de tartarugas-verdes juvenis são um reflexo das características locais no tempo presente, e quanto aos contaminantes persistentes que bioacumulam, também da história pregressa.

Pouco se sabe sobre os aspectos ambientais que modulam a manifestação da FP nos diversos locais. Muitos possíveis agentes foram sugeridos como etiologia da FP, entre eles, fatores ambientais como radiação ultravioleta, contaminantes (HERBST, 1994) e toxinas de dinoflagelados (ARTHUR et al., 2006b), porém sem nenhuma certeza. Com a confirmação da associação da FP com o ChHV5, os fatores ambientais passaram a ser considerados como indutores ou moduladores da infecção e de sua manifestação e não como agentes causais. Esse papel pode se dar por pelo menos duas razões básicas que podem atuar juntas ou separadas. Os fatores ambientais podem favorecer o vírus (VAN HOUTAN et al., 2014) ou desfavorecer o hospedeiro através do comprometimento da imunidade (WORK et al., 2001).

Apesar das tentativas, nenhum estudo até o momento conseguiu desvendar irrefutavelmente qualquer relação específica entre a FP e estes fatores.

### **5.1 Fertilizantes e eutrofização**

A relação espacial entre a prevalência de FP com áreas que recebem influência das zonas de agricultura foi confirmada no Havaí, onde há populações residentes de *C. mydas* em suas diferentes ilhas (VAN HOUTAN; HARGROVE; BALAZS, 2010). Foi proposto que o aporte de fertilizantes das zonas agrícolas para o ambiente marinho (especialmente o nitrogênio) seria um fator importante na indução da FP. O nitrogênio seria incorporado pelas algas na forma do aminoácido arginina, que ao ser ingerido pelas tartarugas favoreceria o desenvolvimento viral. Em estudo complementar foi verificado que o nível de arginina nos tumores era mais elevado que em outros tecidos, assim como nas algas invasoras das quais as tartarugas se alimentam. Com isso, os autores alegaram ter desvendado a relação da FP com a poluição. Porém, seu argumento foi refutado convincentemente por outros pesquisadores que

alegaram que a mesma lógica poderia ter efeitos contrários e que seria imprudente focalizar na arginina e desconsiderar outros fatores em uma questão tão complexa (WORK et al., 2014a). Como contraponto aos argumentos apresentados para arginina, o aminoácido ácido glutâmico é inibidor de tumores e também abundante. Assim, por essa lógica seria ele o responsável pelo declínio da FP no Havaí? A assinatura de aminoácidos entre diferentes tecidos é normalmente variável e além disso questionaram aspectos metodológicos importantes que demandam no mínimo maiores estudos sobre o assunto.

Em outro estudo foi adotado um índice de avaliação ecológica (EEI – *ecological evaluation index*) baseado na avaliação da composição percentual de macrófitas sucessionais tardias e de oportunistas (SANTOS et al., 2010). O estudo comparou uma área endêmica no Espírito Santo e uma área indene<sup>10</sup> em Fernando de Noronha. A área endêmica recebeu um escore 2 enquanto a área indene recebeu 8 em uma escala de 2 a 10. A área endêmica teve 52% de prevalência contra zero em Fernando de Noronha. Além disso, as características da FP que foram avaliadas sugerem que a FP é particularmente severa no Espírito Santo.

Uma questão que enfraquece a argumentação na maioria dos estudos que associam biomarcadores, bioindicadores ou qualquer outro aspecto ambiental com a alta prevalência de FP, é a simples relação direta entre a aglomeração em áreas de alimentação e a prevalência. Como se trata de uma doença contagiosa, a proximidade e a densidade populacional serão sempre fatores determinantes do aumento do risco de transmissão, levando à pergunta: As áreas poluídas tem maior prevalência de FP porque são mais poluídas ou simplesmente porque tem mais tartarugas? A possibilidade da presença de “superdisseminadores”, ou seja, poucos animais com muitos tumores pequenos que disseminam muito o vírus, é compatível com a transmissão maior em locais de alta densidade (WORK et al., 2014b).

Essa lógica da relação densidade-transmissão não foi verificada na Flórida. As áreas de maior densidade (golfo da Flórida) tiveram maior prevalência em relação às áreas de menor densidade (Atlântico), com base no monitoramento de animais encalhados (FOLEY et al., 2005). Uma questão importante a se considerar é que o monitoramento de FP através de animais encalhados pode ter vieses relacionados com inúmeros fatores como as causas de morte, derivadas carcaças e atividades antrópicas em nível local e regional, dificultando a extrapolação para a população. Esses fatores poderiam superestimar a prevalência da doença (HERBST, 1994), porém, esta superestimativa em estudos com encalhes não foi verificada no Brasil quando a prevalência foi comparada entre estudos de captura intencional e encalhes (BAPTISTOTTE, 2007).

<sup>10</sup> Indene refere-se a uma área sem relato de casos de determinada doença.

A relação densidade x prevalência deve ser mais estudada através de estudos populacionais específicos com captura intencional e com estimativas reais de densidade para esclarecer melhor questão.

## 5.2 Toxinas de algas tóxicas

Diversas microalgas e dinoflagelados tóxicos crescem epifitamente sobre as macroalgas das quais as tartarugas-verdes se alimentam. Ao comerem, essas tartarugas se expõem às toxinas que as algas produzem naturalmente como defesa. Florações de algas tóxicas podem ocorrer tanto naturalmente como em áreas eutrofizadas (O'NEIL et al., 2012) e impõe um alto risco de mortalidade para a fauna marinha, mas o seu efeito crônico sub-letal não é muito conhecido (CAPPER; FLEWELLING; ARTHUR, 2013). A presença de brevetoxina, produzida pelo dinoflagelado *Karenia brevis* em tecidos de *Lepidochelys kempii* foi demonstrada durante e entre episódios de maré vermelha na Flórida (PERRAULT et al., 2014).

A dieta de tartarugas verdes foi acompanhada durante um episódio de floração de *Lyngbya majuscula*, uma cianobactéria que produz mais 70 compostos com ação biológica, entre eles a lyngbyatoxina A, que é promotora de tumores (ARTHUR et al., 2006a). A toxina foi detectada nas algas em baixa concentração (0,26 mg/Kg de matéria seca) e não houve efeitos visíveis sobre a saúde dos indivíduos, exceto uma diminuição nos níveis de glicose e sódio, indicando uma possível mudança dietária em função da floração e da diminuição da qualidade dos itens alimentares. Esse estudo também evidenciou uma certa ação seletiva das tartarugas e que a ingestão de *Lyngbya majuscula* foi predominantemente acidental. Os efeitos imunomoduladores das brevetoxinas sobre o sistema imune de tartarugas-marinhas foram verificados em *Caretta caretta* (WALSH et al., 2010). Também foram detectados em tartarugas-verdes ácido okadaico, saxitoxina (conteúdo intestinal) e brevetoxinas (fígado) simultaneamente indicando um potencial maior de danos à saúde por intoxicações mistas (CAPPER; FLEWELLING; ARTHUR, 2013). Em áreas eutrofizadas, estas toxinas são mais abundantes, o que levanta a hipótese de que estas substâncias poderiam atuar no surgimento e desenvolvimento da FP.

O ácido okadaico, toxina produzida por dinoflagelados (*Prorocentrum sp.*) é oncogênico podendo ser um fator indutor da FP (LANDSBERG et al., 1999). Sua distribuição geográfica coincide com a da FP e as tartarugas ingerem o dinoflagelado acidentalmente quando se alimentam, estando sujeitas a intoxicação crônica. Muitas evidências experimentais com ratos sugerem uma participação do ácido okadaico na indução da fibropapilomatose conjunta com o herpesvírus. Mais estudos serão necessários para esclarecer o efeito tumorigênico, co-estimulador ou imunossupressor do ácido okadaico e outras toxinas na fibropapilomatose.

Um aspecto que não é abordado na literatura é sobre os mecanismos de defesa fisiológicos e imunológicos que as tartarugas-marinhas por certo possuem contra as toxinas, dada a sua idade evolutiva e extrema adaptação ao ambiente marinho e à sua dieta. Estudos sobre esse assunto ajudariam a explicar a falta de influência direta das toxinas sobre a saúde das tartarugas, mesmo diante de uma floração tóxica como no caso da lyngbyatoxina A na Austrália.

### 5.3 Contaminantes

Os pesquisadores da fibropapilomatose sempre especularam sobre a participação de contaminantes na etiologia ou na patogenia da FP (AGUIRRE, 1992; HERBST, 1994; HERBST; KLEIN, 1995; AGUIRRE; LUTZ, 2004). Contaminantes podem atuar como carcinógenos, ou co- carcinógenos, favorecendo a expressão viral ou como imunossupressores, dificultando o controle da infecção pelo organismo hospedeiro. A fibropapilomatose foi associada à imunossupressão (AGUIRRE et al., 1995; CRAY et al., 2001; WORK et al., 2001, 2002) levando à hipótese de participação de contaminantes imunossupressores na manifestação da FP. Astartarugas-marinhas acumulam contaminantes nos seus tecidos a partir da alimentação, da ingestão incidental de sedimentos ou do contato direto com fontes de poluição e em derramesde óleo por exemplo (SHIGENAKA, 2003; CAMACHO et al., 2014).

O primeiro estudo que tentou correlacionar contaminantes à FP data de 1994, e avaliou tecidos e ovos de *C. mydas* (AGUIRRE et al., 1994a). Porém, não conseguiu obter níveis detectáveis de pesticidas organoclorados, bifenilpoliclorados, organofosforados, carbamatos e metais pesados e consequentemente, estabelecer alguma correlação com a fibropapilomatose. Possivelmente a sensibilidade do método utilizado (20 a 1000 ng/g) não era comparável aos baixos limites de detecção das metodologias atuais. Outro estudo analisou três *Chelonia mydas* do Havaí encontrando mais PCBs em uma tartaruga sem FP do que as outras duas com FP, porém o número de amostras era muito pequeno para permitir qualquer conclusão (MIAO et al., 2001).

A utilização de plasma sanguíneo como amostra para análise de contaminantes por cromatografia gasosa ou líquida, acoplada a espectrometria de massas foi um passo importante. Por ser uma coleta de material minimamente invasiva e não destrutiva, como no caso dos tecidos, tornou-se possível estudar animais de vida livre sem necessidade de eutanasiar os animais, permitindo também a coleta seriada de amostras e o monitoramento temporal (KELLER; KUCKLICK; MCCLELLAN-GREEN, 2004). A concentração de contaminantes organoclorados no sangue de tartarugas-marinhas corresponde à da gordura corporal. Deve-se levar em conta porém, que a concentração plasmática varia mais que a da gordura, pois sofre influência direta da ingestão e também do aumento da concentração dos contaminantes persistentes pela mobilização de gordura corporal para obtenção de

energia pelo animal, tanto patológica (caquexia), quanto fisiológica (afagia reprodutiva) (KELLER et al., 2004a).

Um estudo recente utilizando amostras de plasma de *C. mydas* no Havai considerou a participação de 164 contaminantes persistentes descartada como fator causal da FP, mas a concentração de contaminantes observada foi considerada como fator que influencia na condição geral do indivíduo acometido durante a progressão da doença (KELLER et al., 2014). Foram analisados quatro grupos de tartarugas divididos por área geográfica com diferentes prevalências de FP. Quatro classes de POPs (poluentes orgânicos persistentes) foram detectadas em pelo menos uma tartaruga de cada grupo (4,4'-DDE, total clordanos, total PBDEs, and total PCBs). Porém, não se verificou uma correlação positiva entre a prevalência de FP e a concentração de contaminantes, o que levou à conclusão de que os contaminantes não participam como gatilho da FP. O grupo de tartarugas encontradas encalhadas com alto grau de acometimento, e que tiveram que ser eutanasiadas, apresentaram as maiores concentrações de POPs, atribuída à mobilização de reservas energéticas lipídicas para sobrevivência. À medida que o grau de FP aumentou e o índice de condição corporal diminuiu, o total de PCBs e os PBDEs hidroxilados dietários diminuiu. À medida que o lipídeo plasmático e hematócrito diminuíram, os PCBs, PBDEs e 4,4'-DDE aumentaram e os PBDEs hidroxilados dietários diminuíram. Essas correlações são explicadas pela perda de peso, mobilização lipídica e diminuição da ingestão no grupo de tartarugas encalhadas. Nas tartarugas não encalhadas à medida que o grau de FP aumentou e a condição corporal diminuiu, as concentrações de 6-OH PBDE 47 diminuíram, reforçando a diminuição de ingestão em tartarugas acometidas, que por isso acumularam menores níveis de produtos naturais derivados de algas. Os autores rejeitam a hipótese de que POPs teriam um efeito imunossupressor favorecendo a infecção e o início da FP, pois as concentrações obtidas foram muito baixas, aliado ao fato de que as tartarugas se tornam imunossuprimidas após adquirirem a doença.

*Caretta caretta* adultas de Cabo Verde apresentaram níveis plasmáticos de PCBs inversamente correlacionados com o hematócrito indicando que pode haver anemia relacionada a presença desses compostos (CAMACHO et al., 2013). Tartarugas com graus elevados de FP apresentam-se geralmente anêmicas (WORK; BALAZS, 1999; AGUIRRE; BALAZS, 2000; SANTOS, 2005), e a presença de contaminantes poderia portanto, agravar o quadro ou reduzir as chances de recuperação. Da mesma forma, as concentrações plasmáticas de contaminantes organoclorados se correlacionam com diversos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Caretta caretta*, indicando anemia, imunomodulação, dano hepatocelular e alterações proteicas e iônicas (KELLER et al., 2004b). Por isso, é provável que a liberação de contaminantes provenientes da gordura contribua para uma pior condição de saúde e conseqüentemente o agravamento da FP. Isso explicaria por exemplo,

variações na gravidade em termos de grau de acometimento de fibropapilomatose entre áreas geográficas com graus diferentes de poluição.

Há poucos dados científicos disponíveis sobre a presença e efeitos dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) sobre *C. mydas* (CAMACHO et al., 2014) e nenhum sobre a fibropapilomatose. HAPs (somatório dos 16 HAP considerados mais toxicologicamente relevantes) foram os contaminantes encontrados em maiores concentrações em *C. caretta* adultas em desova em Cabo Verde. Fenantreno e fluoreno foram encontrados com maior frequência. Diversas correlações foram encontradas entre os HAP e parâmetros leucocitários (heterofilos, eosinófilos e monócitos) indicando que possa haver uma modulação da imunidade inata. HAPs também apresentaram correlações com diversos eletrólitos, enzimas, proteínas e albumina, indicando que HAP podem afetar especialmente os rins (CAMACHO et al., 2013). Convém levar em conta que HAP não são acumulados pois são biodegradados rapidamente. Assim, a presença de HAPs no plasma revela sempre a condição atual de contato da tartaruga com os HAPs do ambiente, mesmo em fêmeas afégicas devido ao ciclo reprodutivo e que dependem de intensa mobilização energética, levando a mobilização de contaminantes da gordura. Dado o potencial carcinogênico dos HAP, é prudente e oportuno avaliar o seu efeito sobre o início e o desenvolvimento da FP.

Diversos estudos relatam a ocorrência de metais e outros elementos traço em tecidos e ovos de *Chelonia mydas*, e sua bioacumulação porém, nenhum estudo recente avalia a associação com a FP, sendo uma área aberta para amplos estudos (SAKAI et al., 2000; STORELLI et al., 2008; KOMOROSKE et al., 2012; BEZERRA et al., 2013; CAMACHO et al., 2014; DA SILVA et al., 2014).

## 6. A IMUNIDADE E A FP – ESTUDOS IMUNOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS

Elevados níveis de corticosterona e uma resposta adrenal ao estresse de captura mais elevada de tartarugas com FP em relação a não acometidas justificam a tese de imunossupressão (AGUIRRE et al., 1995). Os autores compararam os níveis de corticosterona, valores bioquímicos e hematológicos de dois grupos de 5 indivíduos de tartarugas-verdes com e sem FP. Obtiveram maiores níveis médios de corticosterona, maior contagem de heterofilos e relação heterofilos/linfócitos nos animais acometidos. Os parâmetros bioquímicos revelaram pior condição corporal nas tartarugas com FP e a hematologia uma anemia crônica. Os níveis de elevação de corticosterona nos animais acometidos foi maior e permaneceram mais elevados até 24 pós captura. Os resultados sugeriram que os animais com FP são mais suscetíveis a outras doenças que podem ocorrer em paralelo à FP e mais debilitados. Apesar do número amostral baixo (5 animais por grupo de acometimento), os autores conseguiram verificar diferenças no comportamento da corticosterona, bioquímica e hematologia em 4 categorias de acometimento em 4 coletas ao longo de 24 horas. A corticosterona apresentou um pico

entre 3 e 4 horas após a captura sendo a elevação maior nas tartarugas mais acometidas. Nas tartarugas saudáveis, a corticosterona baixou mais do que nas doentes após 24h. Tartarugas com FP apresentaram anemia não regenerativa, linfocitopenia e heterofilia, revelando uma condição de imunossupressão crônica. A relação heterófilos/linfócitos foi elencada como boa indicadora do estresse de captura. As tartarugas com FP tiveram maiores valores de heterófilos e menores de linfócitos ao longo do tempo e consequentemente da relação heterófilos:linfócitos.

Outro estudo que compara valores hematológicos de tartarugas com e sem FP foi feito na Indonésia em tartarugas desembarcadas de um barco de pesca (ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997). As amostras foram coletadas por punção cardíaca em 29 tartarugas sem FP e 26 acometidas, sem definição de grau de acometimento. Foi encontrada uma discreta anemia caracterizada pelo menor valor da contagem total de hemácias no grupo com FP, porém esse achado foi atribuído à parasitose cardiovascular por Spirorquidae, além disso, certamente, o fato de serem animais que permaneceram embarcados em condições estressantes, sujeitos a desidratação, mascaram a condição basal, mesmo dos animais saudáveis, incluindo um fator que altera de maneira importante os parâmetros hematológicos.

Work & Balazs (1999) realizaram um estudo correlacionando parâmetros hematológicos das tartarugas acometidas em diferentes graus e verificaram que as tartarugas acometidas estavam anêmicas, hipoproteinêmicas e possivelmente imunossuprimidas. Este estudo foi feito com amostras colhidas do seio venoso cervical, mais comparáveis com os estudos que o sucederam. Um estudo feito em São Paulo com tartarugas provenientes de reabilitação obteve valores menores de hematócrito e proteínas em tartarugas com elevado grau de FP, e aumento no número de eosinófilos de acordo com o grau de acometimento, que poderia estar associado a ocorrência de helmintos, mas essa hipótese não foi explorada no artigo (ROSSI et al., 2009). Em outro foi observada uma diminuição na hemoglobina corpuscular média de acordo com o grau de acometimento por FP em 29 tartarugas com FP (ZWARG et al., 2014). Os baixos valores de hematócrito em tartarugas gravemente acometidas por FP foram também observados no Espírito Santo, onde observamos uma correlação positiva deste com o índice corporal<sup>11</sup> e um baixo hematócrito em tartarugas em grau 3<sup>12</sup> de acometimento (SANTOS, 2005).

As tartarugas-verdes acometidas por FP foram consideradas imunossuprimidas (CRAY et al., 2001) e cronicamente estressadas, o que influencia diretamente nos valores hematológicos (WORK et al., 2001). Ao avaliar a resposta imune celular e humoral de tartarugas-verdes com FP verificou-se que as tartarugas com grau 3 de FP apresentam menores valores de hematócrito, proteína total, alfa 1, alfa 2, e gama-globulinas, indicando um estado de imunossupressão. Ao se comparar animais

saudáveis e com grau 1 de FP entre áreas com alta e baixa prevalência, não se verificou diferença no status imunológico, indicando que a imunossupressão não é um pré-requisito para aquisição da FP. A relação heterofilo/linfócito aumentou enquanto a relação eosinófilo/monócito diminuiu com o grau de acometimento. Além disso, tartarugas com grau 2 e 3 apresentaram menores índices de proliferação de células mononucleares periféricas. Outro estudo verificou uma diminuição da resposta ao estímulo mitogênico inespecífico em linfócitos T e B de tartarugas com FP e alteração na relação albumina/globulinas por aumento de globulinas e diminuição de albumina, corroborando estes achados (CRAY et al., 2001). Estes autores discutem o fato de que tartarugas com FP tornam-se imunocomprometidas com o avanço da doença, em função da desnutrição e da debilitação geral dos animais.

De maneira geral, os estudos hematológicos revelam sempre um quadro anêmico e resposta leucocitária variável, que deve ser distinguida da resposta de estresse e de diversos outros fatores que podem afetar os parâmetros hematológicos como localização geográfica, tamanho/idade, sexo, época do ano, temperatura ambiente, forma de coleta de amostras e outras doenças simultâneas à FP.

## 7. A FIBROPAPILOMATOSE E A BIOQUÍMICA CLÍNICA

As tartarugas com fibropapilomatose também exibem alterações nos parâmetros bioquímicos, especialmente aqueles relacionados a condição geral de saúde e aspectos nutricionais. Por isso, deve-se levar sempre em conta a categorização do grau de acometimento por FP, uma vez que animais em graus elevados apresentam-se em geral, mais debilitados. Hipoalbuminemia, hipoglobulinemia, hipofosfatemia, hipotrigliceridemia em tartarugas com FP são indicativos de uma condição debilitante crônica. A hipoferrêmia observada em tartarugas com FP foi considerada como um mecanismo de defesa em resposta à infecção (AGUIRRE et al., 1995). Isto também foi bem evidenciado por Aguirre & Balazs (2000) comparando tartarugas- verdes juvenis saudáveis e classificadas em 3 categorias de acometimento. As tartarugas em graus elevados de FP apresentaram hipoproteinemia, relação Ca/P invertida, hipoferrêmia, hipocolesterolemia e hipotrigliceridemia e azotemia e relação ureia/creatinina desproporcionais. Dados semelhantes haviam sido relatados em uma tartaruga-verde com FP em mixofibroma renal (NORTON; JACOBSON; SUNDBERG, 1990).

$$^{11} \text{Índice corporal} = \frac{\text{peso (Kg)}}{\text{Comprimento Curvilíneo do Casco (cm)}^3}$$

<sup>12</sup> De acordo com a categorização proposta por Work e Balazs (1999). Vide o tópico *Características macroscópicas*.

Diversos fatores deve ser considerados quando da interpretação de parâmetros bioquímicos em relação à FP, especialmente animais de reabilitação ou cativeiro em relação a animais de vida livre, uma vez que especialmente as condições de alimentação são bastante diferentes e geram distintas assinaturas bioquímicas (SWIMMER, 2000).

Comparando tartarugas marinhas acometidas e saudáveis no Espírito Santo, também encontramos um perfil bioquímico que reflete a condição debilitante da FP à medida que seu quadro se agrava nos animais (SANTOS, 2005). Observamos uma correlação positiva entre o índice corporal a partir do peso e tamanho das tartarugas e os níveis de colesterol e proteínas em tartarugas sem FP. Também encontramos tartarugas com grau 3 de FP urêmicas, o que poderia estar associado tumores internos, porém, a ocorrência destes no Brasil é rara (BAPTISTOTTE, 2007). O mais provável é que seja um achado concorrente com parasitose granulomatosa crônica por *Learedius learedi*, Spirochidae, pois são parasitas cardiovasculares considerados muito comuns no Brasil (WERNECK et al., 2006). Uma correlação positiva entre proteínas e globulinas com o índice corporal refletiu a melhor condição das tartarugas com grau 1 e 2, uma vez que o avanço da FP compromete a capacidade da tartaruga obter alimento (ANDERSON et al., 2011). A correlação entre a relação ureia:creatinine, Mg, aspartato aminoaminotransferase e bilirrubina direta também são alterações bioquímicas inespecíficas em tartarugas com FP secundárias à debilidade crônica associada com a doença. Dada a variabilidade destes parâmetros, essas alterações não devem ser consideradas patognomônicas da doença. Portanto, não se deve pensar que exista uma assinatura bioquímica característica da FP pois os parâmetros bioquímicos refletem a condição geral de saúde dos animais. Os parâmetros bioquímicos não são úteis para diagnosticar a FP, mas sim para se avaliar o seu efeito sobre a condição de saúde das tartarugas acometidas. Os estudos clínico-patológicos sobre a FP são consensuais em encontrar quadros caracterizados pelo prejuízo que a doença causa à condição geral de saúde das tartarugas à medida que a doença evolui.

## 8. CONCLUSÕES

Considerando o número de estudos e esforços dedicados à fibropapilomatose, muito se caminhou e alguns marcos no conhecimento da doença devem ser reconhecidos, especialmente seu caráter infeccioso e transmissível, a identificação do ChHV5 como agente participante da etiologia da doença e sua descrição genética e de suas variantes, os dados epidemiológicos existentes e a descrição precisa das características anatomo-patológicas. Porém, perguntas importantes ainda continuam sem resposta como por exemplo, como se dão as relações epidemiológicas com potenciais agentes transmissores do ChHV5, como as características do meio e a influência antrópica modulam a prevalência, como as características genéticas de resistência relacionadas a complexo de histocompatibilidade principal (MHC) das tartarugas contribuem para a infectividade e o

desenvolvimento da neoplasia, dentre muitas outras. Parece claro que uma melhor compreensão da patogenia da FP se beneficiará de estudos que correlacionem mais do que poucos parâmetros biométricos e a avaliação da manifestação da FP em si, para se compreender a doença, bem como de uma avaliação integral dos animais acometidos incluindo as doenças que ocorrem concomitantemente. Assim, como a patogenia é complexa, provavelmente será necessário incluir estudos com animais juvenis experimentalmente infectados com ChHV5 e a introdução destes parâmetros (sozinhos ou combinados) para se testar definitivamente seus efeitos na indução ou no desenvolvimento da FP. Aliado a isso, o monitoramento constante e a inclusão de novas áreas de estudo pouco exploradas enriquecerão o conhecimento da doença. Desta forma, aos poucos, a ignorância sobre a fibropapilomatose vai se dissipando e a esperança de que seu impacto sobre a populações de *Chelonia mydas* não seja tão expressivo quanto se estimava a princípio, pode se converter em modelos epidemiológicos preditivos que lidem com menor subjetividade com um fenômeno tão marcante na história das doenças emergentes da fauna marinha.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADNYANA, W.; LADDS, P. W.; BLAIR, D. Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. **Australian veterinary journal**, v. 75, n. 10, p. 736–742, 1997. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-0813.1997.tb12258.x/full>>.

AGUIRRE, A. A. Green turtle fibropapillomatosis: in search of an etiology. **American Association of Zoo Veterinarians Annual Proceedings**, v. 1992, p. 167 ST – Green turtle fibropapillomatosis: in sea, 1992.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H. Blood Biochemistry Values of Green Turtles , *Chelonia Mydas* , With and Without Fibropapillomatosis. **Comparative Haematology International**, v. 10, p. 132–137, 2000.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; SPRAKER, T. R.; GROSS, T. S. Adrenal and Hematological Responses to Stress in Juvenile Green Turtles (*Chelonia mydas* ) with and without Fibropapillomas. **Physiological Zoology**, v. 68, n. 5, p. 831–854, 1995.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; SPRAKER, T. R.; MURAKAWA, S. K. K.; ZIMMERMAN, B. Pathology of oropharyngeal fibropapillomatosis in green turtles *Chelonia mydas*. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 14, n. 4, p. 298–304, 2002. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Pathology+of+oropharyngeal+fibropapillomatosis+in+green+turtles#0>>.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; GALEY, F. D. Organic Contaminants and Trace Metals in the Tissues of Green Turtles (*Chelonia mydas*) Afflicted with Fibropapillomas in the Hawaiian Islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 109–114, 1994a.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; SPRAKER, T. R. Evaluation of Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*) for potential pathogens associated with fibropapillomas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 30, n. 1, p. 8–15, 1994b. Disponível em: <<http://www.jwildlifedis.org/cgi/content/abstract/30/1/8>>.

AGUIRRE, A. A.; LUTZ, P. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? **EcoHealth**, v. 1, n. 3, p. 275–283, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10393-004-0097-3>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 1, p. 91–98, 1998. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.7589/0090-3558-34.1.91>>.

AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; CHAVES, A.; TOIT, L. Du; EURE, W.; BALAZS, G. H. Pathology of Fibropapillomatosis in Olive Ridley Turtles *Lepidochelys olivacea* Nesting in Costa Rica. **Journal Of Aquatic Animal Health**, v. 11, p. 283–289, 1999.

ALFARO-NÚÑEZ, A.; FROST BERTELSEN, M.; BOJESEN, A. M.; RASMUSSEN, I.; ZEPEDA-MENDOZA, L.; TANGE OLSEN, M.; GILBERT, M. T. P. Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles. **BMC Evolutionary Biology**, v. 14, p. 1–11, 2014. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2148/14/206>>.

ALFARO-NÚÑEZ, A.; GILBERT, T. T. P. Validation of a sensitive PCR assay for the detection of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus in latent turtle infections. **Journal of Virological Methods**, v. 206, p. 38–41, 2014.

ANDERSON, E. T.; MINTER, L. J.; CLARKE, E. O.; MROCH, R. M.; BEASLEY, J. F.; HARMS, C. A. The Effects of Feeding on Hematological and Plasma Biochemical Profiles in Green (*Chelonia mydas*) and Kemp's Ridley (*Lepidochelys kempii*) Sea Turtles. **Veterinary medicine international**, v. 2011, p. 890829, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21776356>>.

ARTHUR, K. E.; LIMPUS, C. J.; ROELFSEMA, C. M.; UDY, J. W.; SHAW, G. R. A bloom of *Lyngbya majuscula* in Shoalwater Bay, Queensland, Australia: An important feeding ground for the green turtle (*Chelonia mydas*). **Harmful Algae**, v. 5, n. 3, p. 251–265, abr. 2006a. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S156898830500082X>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

ARTHUR, K. E.; SHAW, G.; LIMPUS, C.; UDY, J. A review of the potential role of tumour-promoting compounds produced by *Lyngbya majuscula* in marine turtle fibropapillomatosis. **African Journal of Marine Science**, v. 28, n. 2, p. 441–446, 2006b. Disponível

e

m:

<<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:A+review+of+the+potential+role+of+tumour-promoting+compounds+produced+by+Lyngbya+majuscula+in+marine+turtle+fibropapillomatosis#0>>.

BALAZS, G. H. **Synopsis of biological data on the green turtle in the Hawaiian Islands.** NOAA Technical Memorandum NMFS SWFCUS Dept. of Commerce, NOAA Technical Memorandum NMFS-SWC-7, , 1980. .

BALAZS, G. H. Fibropapillomas in Hawaiian Green Turtles. **Marine Turtle Newsletter**, v. 39, p. 1–3, 1986.

BALAZS, G. H.; POOLEY, S. G. Current status of fibropapillomas in the Hawaiian green turtle, *Chelonia mydas*. In: Research plan for marine turtle fibropapilloma, **Anais...US** Dept. of Commerce, NOAA Technical Memorandum NMFS- SWFSC-156, 1991.

BAPTISTOTTE, C. **Caracterização espacial e temporal da fibropapilomatose em tartarugas marinhas da costa brasileira.** 2007. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

BAPTISTOTTE, C.; SCALFONI, J. T.; GALLO, B. M. G.; S, A.; CASTILHOS, J. C. De; LIMA, E. H. S. M.; BELLINI, C.; BARATA, C. R. **Prevalence of sea turtle fibropapillomatosis in brazil** (M. S. Coyne, R. D. Clark, Eds.) **Twenty First Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation**, 2001. .

BENNETT, P.; KEUPER-BENNETT, U.; BALAZS, G. H. Photographic Evidence for the Regression of Fibropapillomas Afflicting Green Turtles at Honokowai, Maui, in the Hawaiian Islands. (T. Wibbels, H. Kalb, Eds.) In: Proc 19th Annual Symposium of Sea Turtle Conservation

and Biology, Washington, DC. **Anais...** Washington, DC: U.S. Department of Commerce, (NOAA Technical Memorandum, NMFS-SEFCS-443), 1999.

BEZERRA, M. F.; LACERDA, L. D.; LIMA, E. H. S. M.; MELO, M. T. D. Monitoring mercury in green sea turtles using keratinized carapace fragments (scutes). **Marine Pollution Bulletin**, v. 77, n. 1-2, p. 424–427, 15 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24095202>>. Acesso em: 3 jul. 2014.

BOWEN, B. W.; KARL, S. a. **Population genetics and phylogeography of sea turtles****MolecularEcology**, dez. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17944856>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

BRESETTE, M. J.; FOLEY, A. M.; SINGEWALD, D. A.; SINGEL, K. E.; HERREN, R. M.; REDLOW, A. E. The First Report of Oral Tumors Associated with Fibropapillomatosis in Florida, USA. **Marine Turtle Newsletter**, v. 101, p. 21–23, 2003. Disponível em: <<http://www.seaturtle.org/mtn/archives/mtn101/mtn101p21.shtml>>.

BRILL, R.; BALAZS, G. H.; HOLLAND, K. N.; CHANG, R. K. C.; SULLIVAN, S.; GEORGE, J. C. Daily movements, habitat use, and submergence intervals of normal and tumor-bearing juvenile green turtles (*Chelonia mydas* L.) within a foraging area in the Hawaiian islands. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 185, n. 2, p. 203–218, 1995. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022098194001465>>.

BROOKS, D. E.; GINN, P. E.; MILLER, T. R.; BRAMSON, L.; JACOBSON, E. R. Ocular fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). **Veterinary pathology**, v. 31, p. 335–339, 1994.

CAMACHO, M.; BOADA, L. D.; ORÓS, J.; LÓPEZ, P.; ZUMBADO, M.; ALMEIDA-GONZÁLEZ, M.; LUZARDO, O. P. Monitoring organic and inorganic pollutants in juvenile live sea turtles: results from a study of *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata* in Cape Verde. **The Science of the total environment**, v. 481, p. 303–10, 15 maio 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24602915>>. Acesso em: 1 jul. 2014.

CAMACHO, M.; ORÓS, J.; BOADA, L. D.; ZACCARONI, A.; SILVI, M.;

FORMIGARO, C.; LÓPEZ, P.; ZUMBADO, M.; LUZARDO, O. P. Potential adverse effects of inorganic pollutants on clinical parameters of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): Results from a nesting colony from Cape Verde, West Africa. **Marine Environmental Research**, v. 92, p. 15–22, 1 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23665416>>. Acesso em: 10 jun. 2014.

CAPPER, A.; FLEWELLING, L. J.; ARTHUR, K. Dietary exposure to harmful algal bloom ( HAB ) toxins in the endangered manatee ( *Trichechus manatus latirostris* ) and green sea turtle ( *Chelonia mydas* ) in Florida , USA. **Harmful Algae**, v. 28, p. 1–9, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2013.04.009>>.

CASEY, R. N.; QUACKENBUSH, S. L.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; BOWSER, P. R.; CASEY, J. W. Evidence for retrovirus infections in green turtles *Chelonia mydas* from the Hawaiian islands. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 31, n. 1, p. 1–7, 1997. Disponível em: <<http://www.int-res.com/abstracts/dao/v31/n1/p1-7/>>.

CHALOUPKA, M. Y.; BALAZS, G. H.; WORK, T. M. Rise and Fall over 26 Years of a Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles. **Journal of Wildlife Diseases**, 2009.

COBERLEY, S. S.; HERBST, L. H.; BROWN, D. R.; EHRHART, L. M.; BAGLEY, D. A.; SCHAF, S. A.; MORETTI, R. H.; JACOBSON, E. R.; KLEIN, P. A. Detection of antibodies to a disease-associated herpesvirus of the green turtle, *Chelonia mydas*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 10, p. 3572–3577, 2001a. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/39/10/3572>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

COBERLEY, S. S.; HERBST, L. H.; EHRHART, L. M.; BAGLEY, D. A.; HIRAMA, S.; JACOBSON, E. R.; KLEIN, P. A. Survey of Florida green turtles for exposure to a disease-associated herpesvirus. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 47, n. 3, p. 159–167, 2001b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11804414>>.

CRAY, C.; VARELLA, R.; BOSSART, G. D.; LUTZ, P. Altered in vitro immune responses in green turtles (*Chelonia mydas*) with fibropapillomatosis. **Journal of zoo and wildlife medicine official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**, v. 32, n. 4, p. 436–440, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12785698>>.

CROFT, L. A.; GRAHAM, J. P.; SCHAF, S. A.; JACOBSON, E. R. Evaluation of magnetic resonance imaging for detection of internal tumors in green turtles with cutaneous fibropapillomatosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 225, n. 9, p. 1428–1435, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15552321>>.

CURRY, S. S.; BROWN, D. R.; GASKIN, J. M.; JACOBSON, E. R.; EHRHART, L. M.; BLAHAK, S.; HERBST, L. H.; KLEIN, P. A. Persistent infectivity of a disease-associated herpesvirus in green turtles after exposure to seawater. **Journal of Wildlife Diseases**, v.36, n. 4, p. 792–797, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11085447>>.

D'AMATO, A. F.; MORAES-NETO, M. First Documentation of Fibropapillomas Verified by Histopathology in *Eretmochelys imbricata*. **Marine Turtle Newsletter**, v. 89, p. 12–13, 2000.

DA SILVA, C. C.; VARELA, A. S.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A. Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 466-467, p. 109–118, 1 jan. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23895781>>. Acesso em: 3 jul. 2014.

DAILEY, M. D.; MORRIS, R. Relationship of parasites (Trematoda: Sphirochidae) and their eggs to the occurrence of fibropapillomas in the green turtle (*Chelonia mydas*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 52, n. Supplement 1, p. 84–89, 1995.

DUARTE, A.; FAÍSCA, P.; LOUREIRO, N. S.; ROSADO, R.; GIL, S.; PEREIRA, N.; TAVARES, L. First histological and virological report of fibropapilloma associated with herpesvirus in *Chelonia mydas* at Príncipe Island, West Africa. **Archives of Virology**, v. 157, p. 1155–1159, 2012.

DUTRA, G. H.; NASCIMENTO, C. L.; FUTEMA, F. Fibropapilomas viscerais associados ao fibropapiloma cutâneo em *Chelonia mydas* em reabilitação. **Natural Resources**, v. 2, n. 79, p. 50–62, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.6008/ESS2237-9290.2012.002.0005>> \n\n>.

ENE, A.; SU, M.; LEMAIRE, S.; ROSE, C.; SCHAFF, S.; MORETTI, R.; LENZ, J.; HERBST, L. H. Distribution of chelonid fibropapillomatosis-associated herpesvirus variants in Florida: molecular genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. **Journal of wildlife diseases**, v. 41, n. 3, p. 489–497, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16244058>>.

FOLEY, A. M.; SCHROEDER, B. A.; REDLOW, A. E.; FICK-CHILD, K. J.; TEAS, W. G. Fibropapillomatosis in stranded green turtles (*Chelonia mydas*) from the eastern United States (1980-98): trends and associations with environmental factors. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 1, p. 29–41, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15827208>>.

FORMIA, A.; DEEM, S.; BILLES, A.; NGOUESSONO, S.; PARNELL, R.; COLLINIS, T.; SOUNGUET, G. P.; GIBUDI, A.; VILLARUBIA, A.; BALAZS, G. H.; SPRAKER, T. R. Fibropapillomatosis confirmed in *Chelonia mydas* in the Gulf of Guinea, West Africa. **Marine Turtle Newsletter**, v. 116, p. 20–22, 2007. Disponível em: <<http://www.seaturtle.org/mtn/archives/mtn116/mtn116p20.shtml>>.

GOMES, M. G. T.; SANTOS, M. R. de D.; HENRY, M. Tartarugas marinhas de ocorrência no Brasil: hábitos e aspectos da biologia da reprodução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 1/2, p. 19–27, 2007.

GREENBLATT, R. J.; QUACKENBUSH, S. L.; CASEY, R. N.; ROVNAK, J.; BALAZS, G. H.; WORK, T. M.; CASEY, J. W.; SUTTON, C. A. Genomic Variation of the Fibropapilloma-Associated Marine Turtle Herpesvirus across Seven Geographic Areas and Three Host Species. **Journal of Virology**, v. 79, n. 2, p. 1125–1132, 2005. Disponível em: <<http://jvi.asm.org/cgi/content/abstract/79/2/1125>>.

GREENBLATT, R. J.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; SUTTON, C. a; CASEY, R. N.; CASEY, J. W. The *Ozobranchus* leech is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). **Virology**, v. 321, n. 1, p. 101–110, 30 mar.

2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15033569>>. Acesso em: 3jul. 2014.

HENDRICKSON, J. R. The green sea turtle, *Chelonia mydas* (Linn.).

**Proceedings of the Royal Zoological Society of London**, v. 130, p. 455–535, 1958.

HERBST, L.; ENE, A.; SU, M.; DESALLE, R.; LENZ, J. **Tumor outbreaks in marineturtles are not due to recent herpesvirus mutations****Current Biology**, 2004. .

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis of marine turtles. **Annual Review of FishDiseases**, v. 4, n. 6, p. 389–425, 1994. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T46-49KKP57-1P/2/Oce9fca56db719c42c487ebea7c23554>>.

HERBST, L. H. Marine turtle fibropapillomatosis: hope floats in a sea of ignorance. (H. J. Kalb, T. Wibbels, Eds.) In: Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, **Anais...**U.S. Dept. Commerce. NOAA Tech. Memo. NMFS- SEFSC-443, 2000.

HERBST, L. H.; GARBER, R. L.; LOCKWOOD, L.; KLEIN, P. A. Molecular biological evidence for the involvement of a unique herpes virus in the pathogenesis of green turtle fibropapillomatosis. (R. Byles, Y. Fernandez, Eds.) In: Proceedings of the Sixteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, **Anais...**NOAA Technical Memorandum NMFS- SEFSC-412, 1998.

HERBST, L. H.; GREINER, E. C.; EHRHART, L. M.; BAGLEY, D. A.; KLEIN, P. A. Serological Association Between Spirorchidiasis, Herpesvirus Infection, and Fibropapillomatosis in Green Turtles From Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n.3, p. 496–507, 1995a.

HERBST, L. H.; JACOBSON, E. R.; KLEIN, P. A.; BALAZS, G. H.; MORETTI, R.; BROWN, T. B.; SUNDBERG, J. P. Comparative Pathology and Pathogenesis of Spontaneous and Experimentally Induced Fibropapillomas of Green Turtles ( *Chelonia mydas* ). **Veterinary Pathology**, v. 564, n. 6, p. 551–564, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10568436>>.

HERBST, L. H.; JACOBSON, E. R.; MORETTI, R.; BROWN, T.; SUNDBERG, J. P.; KLEIN, P. A. Experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis using cell-free tumor extracts. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 22, p. 1–12, 1995b.

HERBST, L. H.; JACOBSON, E. R.; MORETTI, R. H.; BROWN, T.; SUNDBERG, J. P.; KLEIN, P. A. Experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis using cell-free tumor extracts. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 22, p. 1–12, 1995c.

HERBST, L. H.; KLEIN, P. A. Green turtle fibropapillomatosis: challenges to assessing the role of environmental cofactors. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. Suppl 4, p. 27–30, 1995. Disponível em:  
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1519284&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

HERBST, L. H.; MORETTI, R. H. R.; BROWN, T.; KLEIN, P. A. Sensitivity of the transmissible green turtle fibropapillomatosis agent to chloroform and ultracentrifugation conditions. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 25, n. 3, p. 225–228, 1996.

HIRAMA, S.; EHRHART, L. M. Description, prevalence and severity of green turtle fibropapillomatosis in three developmental habitats on the east coast of Florida. **Florida Scientist**, v. 70, n. 4, p. 435–448, 2007.

ICTV. **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Disponível em:  
<[http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?taxnode\\_id=20130250](http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?taxnode_id=20130250)>. Acesso em: 1 jan. 2015.

JACOBSON, E. R. An Update on Green Turtle Fibropapilloma. **Marine Turtle Newsletter**, v. 49, p. 7–8, 1990.

JACOBSON, E. R.; REICHMANN, M. E.; MANSELL, J. L.; SUNDBERG, J. P.; HAJJAR, L.; EHRHART, L. M.; MURRUG, F. Cutaneous Fibropapillomas ( Chelonia of Greenmydas ) Turtles. **Journal of Comparative Pathology**, v. 101, p. 39–52, 1989.

KANG, K. I.; TORRES-VELEZ, F. J.; ZHANG, J.; MOORE, P. A.; MOORE, D. P.; RIVERA, S.; BROWN, C. C. Localization of fibropapilloma-associated turtle herpesvirus in

green turtles (*Chelonia mydas*) by in-situ hybridization. **Journal of Comparative Pathology**, v. 139, n. 4, p. 218–225, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18823635>>.

KELLER, J. M.; BALAZS, G. H.; NILSEN, F.; RICE, M.; WORK, T. M.; JENSEN, B.  
a. Investigating the potential role of persistent organic pollutants in Hawaiian green sea turtle fibropapillomatosis. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 14, p. 7807–16, 15 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24963745>>.

KELLER, J. M.; KUCKLICK, J. R.; HARMS, C. A.; MCCLELLAN-GREEN, P. D.  
Organochlorine contaminants in sea turtles: correlations between whole blood and fat. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 23, n. 3, p. 726–38, mar. 2004a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15285367>>.

KELLER, J. M.; KUCKLICK, J. R.; MCCLELLAN-GREEN, P. D. Organochlorine contaminants in loggerhead sea turtle blood: extraction techniques and distribution among plasma and red blood cells. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 46, p. 254–264, 2004.

KELLER, J. M.; KUCKLICK, J. R.; STAMPER, M. A.; HARMS, C. A.; MCCLELLAN-GREEN, P. D. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. 1074–1079, 21 abr. 2004b. Disponível em: <<http://www.ehponline.org/ambra-doi-resolver/10.1289/ehp.6923>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

KLEIN, P. A.; HERRERA, M. S.; CURRY, S. S.; BROWN, D. R.; HOMER, B. L.; GARBER, R. L.; MADER, D. R.; MORETTI, R. H.; PATTERSON, A. D.; HERBST, L. H.; OROS, J.; JACOBSON, E. R.; LACKOVICHL, J. K. **Prevalence and Cultivation of a Chelonid herpesvirus associated with fibropapillomas of the green turtle, *Chelonia mydas*, and the loggerhead turtle, *Caretta caretta*, in Florida.** [s.l: s.n.].

KOMOROSKE, L. M.; LEWISON, R. L.; SEMINOFF, J. a; DEUSTCHMAN, D. D.;  
DEHEYN, D. D. Trace metals in an urbanized estuarine sea turtle food web in San Diego Bay, CA. **The Science of the total environment**, v. 417-418, p. 108–16, 15 fev. 2012.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22261404>>. Acesso em: 13 dez.2012.

LACKOVICH, J. K.; DANIEL, R.; HOMER, L.; GARBER, R. L.; DOUGLAS, R.; MORETTI, R. H.; PATTERSON, A. D.; HERBST, L. H.; OROS, J.; ELLIOTT, R.; CURRY, S. S.; KLEIN, P. A. Association of herpesvirus with fibropapillomatosis of the green turtle *Chelonia mydas* and the loggerhead turtle *Caretta caretta* in Florida. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 37, n. 0, p. 89–97, 1999.

LANDSBERG, J. H.; BALAZS, G. H.; STEIDINGER, K. A.; BADEN, D. G.; WORK, T. M.; RUSSELL, D. J. The Potential Role of Natural Tumor Promoters in Marine Turtle Fibropapillomatosis. **Journal Of Aquatic Animal Health**, v. 11, n. 3, p. 199–210, 1999.

LOUREIRO, N. s de S.; MATOS, D. Presence of fibropapillomatosis in green turtles *Chelonia mydas* at Príncipe Island in the Gulf of Guinea. **Life and Marine Sciences**, v. 26, n. May, p. 79–83, 2009.

LU, Y. a; WANG, Y.; AGUIRRE, A. A.; ZHAO, Z. S.; LIU, C. Y.; NERURKAR, V. R.; YANAGIHARA, R. RT-PCR detection of the expression of the polymerase gene of a novel reptilian herpesvirus in tumor tissues of green turtles with fibropapilloma. **Archives of virology**, v. 148, n. 6, p. 1155–63, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12756620>>. Acesso em: 18 ago. 2012.

LU, Y.; AGUIRRE, A. A.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; NERURKAR, V. R.; YANAGIHARA, R. Identification of a small , naked virus in tumor-like aggregates in cell lines derived from a green turtle , *Chelonia mydas* , with fibropapillomas. **Journal of Virological Methods**, v. 86, p. 25 – 33, 2000a.

LU, Y.; WANG, Y.; YU, Q.; AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H. Detection of herpesviral sequences in tissues of green turtles with fibropapilloma by polymerase chain reaction. **Archives of Virology**, v. 145, p. 1885–1893, 2000b.

LU, Y.; YU, Q.; ZAMZOW, J. P.; WANG, Y.; LOSEY, G. S.; BALAZS, G. H.; NERURKAR, V. R.; YANAGIHARA, R. Detection of green turtle herpesviral sequence in saddleback wrasse *Thalassoma duperrey*: A possible mode of transmission of green turtle

fibropapilloma. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, n. February 2015, p. 58–63, 2000c.

LUCKÉ, B. **Studies on tumors in cold-blooded vertebrates. Annual Report of the Tortugas Laboratory**. [s.l: s.n.].

MIAO, X.-S.; BALAZS, G. H.; MURAKAWA, S. K. K.; LI, Q. X. Congener-specific profile and toxicity assessment of PCBs in green turtles (*Chelonia mydas*) from the Hawaiian Islands. **The Science of The Total Environment**, v. 281, n. 1-3, p. 247–253, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11778957>>.

NARO-MACIEL, E.; BECKER, J. H.; LIMA, E. H. S. M.; MARCOVALDI, M. Â.; DESALLE, R. Testing dispersal hypotheses in foraging green sea turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. **The Journal of heredity**, v. 98, n. 1, p. 29–39, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17158465>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

NIGRO, O.; AGUIRRE, A. A.; LU, Y. Nucleotide sequence of an ICP18.5 assembly protein (UL28) gene of green turtle herpesvirus pathogenically associated with green turtle fibropapilloma. **Journal of Virological Methods**, v. 120, n. 1, p. 107–112, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15234815>>.

NIGRO, O.; YU, G.; AGUIRRE, A. A.; LU, Y. Sequencing and characterization of the full-length gene encoding the single-stranded DNA binding protein of a novel Chelonian herpesvirus. **Archives of Virology**, v. 149, p. 337–347, 2004.

[CSL STYLE ERROR: reference with no printed form.]

O'NEIL, J. M.; DAVIS, T. W.; BURFORD, M. a.; GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae**, v. 14, p. 313–334, fev. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568988311001557>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

ORÓS, J.; LACKOVICH, J. K.; JACOBSON, E. R.; BROWN, D. R.; TORRENT, A.; TUCKER, S.; KLEIN, P. A. Fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales en una tortugaverde (*Chelonia mydas*). **Revista Española de Herpetología**, v. 13, p. 17–26, 1999.

PATRÍCIO, A. R.; HERBST, L. H.; DUARTE, A.; VÉLEZ-ZUAZO, X.; LOUREIRO, N. S.; PEREIRA, N.; TAVARES, L.; TORANZOS, G. A. Global phylogeography and evolution of chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus. **Journal of General Virology**, v. 93, p. 1035–1045, 2012.

PERRAULT, J. R.; SCHMID, J. R.; WALSH, C. J.; YORDY, J. E.; TUCKER, A. D. Brevetoxin exposure, superoxide dismutase activity and plasma protein electrophoretic profiles in wild-caught Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*) in southwest Florida. **Harmful Algae**, v. 37, p. 194–202, jul. 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568988314001097>>. Acesso em: 16 jul. 2014.

QUACKENBUSH, S. L.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; CASEY, R. N.; ROVNAK, J.; CHAVES, A.; DUTOIT, L.; BAINES, J. D.; PARRISH, C. R.; BOWSER, P. R.; CASEY, J. W. Three closely related herpesviruses are associated with fibropapillomatosis in marine turtles. **Virology**, v. 246, n. 2, p. 392–399, 1998. Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list\\_uids=9657957](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=9657957)>.

RAIDAL, S. R.; PRINCE, R. I. T. First Confirmation of Multiple Fibropapillomas in a Western Australian Green Turtle (*Chelonia Mydas*). **Marine Turtle Newsletter**, v. 74, p. 7–9, 1996.

RODENBUSCH, C. R.; ALMEIDA, L. L.; MARKS, F. S.; ATAÍDE, M. W.; ALIEVI, M. M.; TAVARES, M.; PEREIRA, R. A.; CANAL, C. W. Detection and characterization of fibropapilloma associated herpesvirus of marine turtles in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1179–1183, 2012.

RODENBUSCH, C. R.; BAPTISTOTTE, C.; WERNECK, M. R.; PIRES, T. T.; MELO, M. T. D.; DE ATAÍDE, M. W.; TESTA, P.; ALIEVI, M. M.; CANAL, C. W. Fibropapillomatosis in green turtles *Chelonia mydas* in Brazil: characteristics of tumors and virus. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 111, n. 3, p. 207–17, 16 out. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25320033>>. Acesso em: 21 out. 2014.

ROSSI, S.; ZWARG, T.; SANCHES, T. C.; CESAR, M. D. O.; WERNECK, M. R.;

MATUSHIMA, E. R. Hematological profile of *Chelonia mydas* ( Testudines , Cheloniidae ) according to the severity of fibropapillomatosis or its absence. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 974–978, 2009.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H.; SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-Specific Distribution of Heavy Metals in Tissues and Organs of Loggerhead Turtle ( *Caretta caretta* ) and Green Turtle ( *Chelonia mydas* ) from Japanese Coastal Waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 8, p. 701–709, 2000.

SANTOS, R. G. dos; MARTINS, A. S.; FARIAS, J. D. N.; HORTA, P. A.; PINHEIRO, H. T.; TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; SEMINOFF, J. A.; BALAZS, G. H.; WORK, T. M. Coastal habitat degradation and green sea turtle diets in Southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 1297–1302, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.03.004>>.

SANTOS, R. G. dos; MARTINS, A. S.; TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; FARIAS, J. da N.; HORTA, P. A.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relationship between fibropapillomatosis and environmental quality: A case study with *Chelonia mydas* off Brazil. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 89, n. 1, p. 87–95, 24 fev. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20391916>>. Acesso em: 16 jun. 2012.

SANTOS, M. R. de D. **Parâmetros bioquímicos, hematócrito e condição corporal no monitoramento da saúde de tartarugas marinhas *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) juvenis selvagens no Espírito Santo, Brasil**. 2005. Universidade Federal do Espírito Santo, 2005.

SCHLUMBERGER, H. G.; LUCKÉ, B. Tumors of fishes, amphibians, and reptiles. **Cancer Research**, v. 8, p. 657–753, 1948.

SHIGENAKA, G. **Oil and sea turtles: biology, planning and response**. Seattle: National Oceanic and Atmospheric Administration, 2003.

SMITH, G. M.; COATES, C. W. Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus). **Zoologica**, v. 23, p. 93–98, 1938.

STORELLI, M. M.; BARONE, G.; STORELLI, A.; MARCOTRIGIANO, G. O. Total and subcellular distribution of trace elements (Cd, Cu and Zn) in the liver and kidney of green turtles (*Chelonia mydas*) from the Mediterranean Sea. **Chemosphere**, v. 70, n. 5, p. 908–13, jan. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17707456>>. Acesso em: 20 nov. 2012.

SWIMMER, J. Y. Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 1, p. 102–110, 2000.

TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; MENDES, S. L.; PAULO C. R. BARATA. Juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) in the effluent discharge channel of a steel. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, v. 90, n. 2, p. 233–246, 2010.

VAN HOUTAN, K. S.; HARGROVE, S. K.; BALAZS, G. H. Land use, macroalgae, and a tumor-forming disease in marine turtles. **PloS one**, v. 5, n. 9, p. 9, jan. 2010. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0012900>>. Acesso em: 8 jan. 2015.

VAN HOUTAN, K. S.; SMITH, C. M.; DAILER, M. L.; KAWACHI, M. Eutrophication and the dietary promotion of sea turtle tumors. **PeerJ**, v. 2, p. e602, 30 set. 2014. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/602>>. Acesso em: 1 out. 2014.

WALSH, C. J.; LEGGETT, S. R.; CARTER, B. J.; COLLE, C. Effects of brevetoxin exposure on the immune system of loggerhead sea turtles. **Aquatic Toxicology**, v. 97, n.4, p. 293–303, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.12.014>>.

WERNECK, M. R.; BECKER, J. H.; GALLO, B. G.; SILVA, R. J. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil: case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 550–555, 2006.

WORK, T. M.; ACKERMANN, M.; CASEY, J. W.; CHALOUPKA, M.; LAWRENCE, H.; LYNCH, J. M.; STACY, B. A. The story of invasive algae, arginine, and turtle tumors does not make sense. **PeerJ preprints**, v. 2:e539v1, p. 2–5, 2014a.

WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relating tumor score to hematology in green turtles with fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 4, p. 804–807, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10574546>>.

WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; RAMEYER, R. A.; MORRIS, R. A. Retrospective pathology survey of green turtles *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis in the Hawaiian Islands, 1993 – 2003. **Diseases Of Aquatic Organisms**, v. 62, p. 163–176, 2004.

WORK, T. M.; DAGENAIS, J.; BALAZS, G. H.; SCHETTLE, N.; ACKERMANN, M. Dynamics of Virus Shedding and In Situ Confirmation of Chelonid Herpesvirus 5 in Hawaiian Green Turtles With Fibropapillomatosis. **Veterinary pathology**, v. 1, n. 8, 2014b.

WORK, T. M.; METEYER, C. U.; COLE, R. a. Mortality in Laysan ducks (*Anas laysanensis*) by emaciation complicated by *Echinuria uncinata* on Laysan Island, Hawaii, 1993. **Journal of wildlife diseases**, v. 40, n. 1, p. 110–4, jan. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15137496>>.

WORK, T. M.; RAMEYER, R. A.; BALAZS, G. H.; CRAY, C.; CHANG, S. P. Immunology of green turtle fibropapillomatosis in Hawaii. (A. Mosier, A. Foley, B. Brost, Eds.) In: Proceedings of the Twentieth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, **Anais...NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFSC-477**, 2002. Disponível em: <<http://www.nmfs.noaa.gov/pr/pdfs/species/turtlesymposium2000.pdf>>.

WORK, T. M.; RAMEYER, R. A.; BALAZS, G. H.; CRAY, C.; SANDRA, P.; CHANG, S. P. Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n. 3, p. 574–581, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11504232>>.

ZWARG, T.; ROSSI, S.; SANCHES, T. C.; CESAR, M. de O.; WERNECK, M. R.; MATUSHIMA, E. R. Hematological and histopathological evaluation of wildlife green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilloma from the north coast of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 682–688, 2014.