

Primer reporte de coccidiosis en tortugas verdes (*Chelonia mydas*) del Golfo de Venezuela

First report of coccidiosis in green turtles (*Chelonia mydas*) from the Gulf of Venezuela

Birelys Conde^{1,2} | Mary Cruz Alvarado³ | Nínive Espinoza-Rodríguez^{1,4*} | Héctor Barrios-Garrido^{5,6}

- Recibido: 17/oct/2017
- Aceptado: 12/nov/2018
- Publicación en línea: 13/may/2019

Citación: Conde B, Alvarado MC, Espinoza-Rodríguez N, Barrios-Garrido H. 2019. Primer reporte de coccidiosis en tortugas verdes (*Chelonia mydas*) del Golfo de Venezuela. *Caldasia* 41(2):278-288.
doi: <https://dx.doi.org/10.15446/caldasia.v41n2.66421>.

ABSTRACT

Coccidian parasites affect several reptilian species worldwide and they are responsible of the demise of hundreds of specimens either in the wilderness or in captivity among several localities throughout the world. Between 2011 and 2013, four out of 108 individuals (3.70 %), were rescued by the Grupo de Trabajo en Tortugas Marinas del Golfo de Venezuela (GTTM-GV) through its protocol 'Red de Aviso Oportuno' (RAO), shown symptoms and signs of a possible disease morphologically resembling to *Caryospora* sp. in intestines and other tissues. Physical, coprological and hematological examinations were carried out to juvenile specimens of Green Turtles captured by artisanal fishing gear. We found abundant oocysts with morphologies compatible with *Caryospora cheloniae* in three individuals (K002, K003, and S001). One of the sampled individuals exhibited leukocytes containing structures similar to sporozoites of *Caryospora* sp., indicating a systemic coccidiosis. Two of the evaluated turtles (K003, S001) were asymptomatic, and the other two (K001, K002) were clinically ill with neurological signs, such as involuntary movements of the head and flippers, muscle spasms, circular swimming movements and depression. Two of the turtles studied died, in both were found several parasitic stages of a coccidian structure in their intestines, and severe necrotic enteritis. This is the first report of coccidian disease in marine turtles in Venezuela and the southern Caribbean.

Keywords. Caribbean, coccidiosis, parasitic diseases, reptiles

¹ Grupo de Trabajo en Tortugas Marinas del Golfo de Venezuela (GTTM-GV). Calle 40B casa 15A-41 N°2, Urbanización Villa Venecia. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. birelysconde@gmail.com, espinozaninive@aol.com*

² Asociación civil para la Conservación de la Biodiversidad Venezolana (ConBiVe). Urbanización San Rafael, Avenida Los Claveles. Quinta Mercedes, Municipio Libertador, Parroquia El Recreo. Caracas, Venezuela.

³ Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad del Zulia (FCV-LUZ). Ciudad Universitaria núcleo Agropecuario apartado 15252. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela; mary.alvarado@fcv.luz.edu.ve

⁴ Laboratorio de Ecología General; Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia, Av. Universidad - Grano de Oro, Apartado 526. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

⁵ Centro de Modelado Científico (CMC). Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia, Av. Universidad - Grano de Oro, Apartado 526. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

⁶ Tropical Water and Aquatic Ecosystem Research Centre-TropWATER, College of Science and Engineering. James Cook University, Townsville, QLD 4811 Australia. 1 James Cook Drive. Edificio 34. Oficina 210. Apartado 4811. Townsville, Estado Queensland, Australia. hector. barriosgarrido@my.jcu.edu.au

* Autor para correspondencia



RESUMEN

Los parásitos coccidiales afectan varias especies de reptiles a nivel mundial y son responsables de la muerte de cientos de ejemplares cautivos y silvestres en diferentes regiones del planeta. Entre los años 2011 y 2013, cuatro de 108 tortugas verdes (3,70 %) rescatadas por Grupo de Trabajo en Tortugas Marinas del Golfo de Venezuela, a través de la “Red de Aviso Oportuno (RAO)”, presentaron diferentes estadios evolutivos morfológicamente semejantes a *Caryospora* sp. en heces o tejidos. Los animales infectados fueron juveniles de tortuga verde capturados por pesquerías artesanales. Se les practicaron exámenes físicos, coprológicos y hematológicos. En tres ejemplares se observaron abundantes ooquistes de morfología compatible con *Caryospora cheloniae* (K001, K002, S001). Uno de los animales presentó en capa blanca, leucocitos que contenían estructuras parecidas a esporozoitos de *Caryospora* sp, indicativo de coccidiosis sistémica. Dos de las tortugas se encontraron asintomáticas (K003, S001), y dos se presentaron clínicamente enfermas con signos neurológicos como movimientos involuntarios de cabeza y aletas, espasmos musculares, movimientos natatorios circulares y depresión. Dos animales murieron (K001, K002), en ambos se encontraron diversos estadios de un organismo coccidial consistente con *Caryospora* sp. en intestino, además una enteritis necrótica moderada. Este constituye el primer reporte de coccidiosis en tortugas marinas en Venezuela y en el Caribe sur.

Palabras clave. Caribe, coccidiosis, enfermedades parasitarias, reptiles

INTRODUCCIÓN

La tortuga verde (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) se reproduce y alimenta en varias zonas a lo largo de la línea costera de Venezuela (Rodríguez et al. 2015). De las áreas de alimentación confirmadas para *C. mydas* el Golfo de Venezuela constituye una de las más importantes de la nación y el Caribe, principalmente por la presencia de praderas de fanerógamas y parches de arrecifes coralinos que proporcionan una gran fuente de alimento para estos animales (Barrios-Garrido y Montiel-Villalobos 2016).

Los principales factores causantes del declive de las poblaciones de tortugas marinas a nivel global son la captura intencional, pesca incidental, cambio climático, modificación y degradación del hábitat (Wallace et al. 2011, IUCN c2015). Entre las amenazas naturales a la supervivencia de estos reptiles se incluyen las causadas por enfermedades, siendo de mayor relevancia las de origen viral como la Fibropapilomatosis y las parasitosis sistémicas causadas por protozoarios y tremátodos vasculares. Estas enfermedades pueden causar alta morbilidad y mortalidad en poblaciones naturales (Jacobson et al. 2006, Flint et al. 2009, Gordon y Johnson c2010, Jones et al. 2016). En el Golfo de Venezuela

muchos de estos factores se encuentran presentes, afectando la viabilidad de las poblaciones de tortugas marinas en el área, y en especial de *C. mydas* por ser esta la especie de mayor frecuencia en la zona (Guada y Solé 2000).

Dentro de las patologías reportadas para *C. mydas* se encuentran las parasitosis sistémicas (Aguirre et al. 2002, 2006, Greiner 2013), entre ellas las causadas por protozoarios del género *Caryospora*. Este grupo de protozoarios cuenta con más de 30 especies de coccidias de ciclo homoxeno o heteroxeno facultativo que afectan a reptiles y aves depredadoras (Duszynki y Morrow 2014).

Hasta ahora, la única especie registrada de este género que afecta a tortugas marinas es *Caryospora cheloniae* Leibovitz et al., 1978 (Rebell et al. 1974). La coccidiosis causada por esta especie es una enfermedad emergente de importancia, que ha sido reportada en tortugas Caguama (*Caretta caretta* Linnaeus, 1758), pero principalmente en ejemplares de tortuga Verde (*Chelonia mydas*) (Manire y Montgomery 2014). Esta coccidiosis produce un cuadro clínico complejo, donde se afectan diferentes órganos mayormente el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central (Rebell et al. 1974, Leibovitz et al. 1978, Gordon

2005, Flint *et al.* 2009, Gordon y Johnson c2010, Manire y Montgomery 2014).

Investigaciones previas sugieren que la presencia de este parásito tiende a ser subestimada debido a lo complejo de su identificación y procesamiento de muestras para identificación (Jacobson *et al.* 2006, Flint *et al.* 2009). En los últimos años se han presentado varios casos en la zona del Golfo de Venezuela que según hallazgos clínicos y de laboratorio son compatibles con *Caryospora cheloniae*, este parásito no había sido reportado previamente en el área, por lo que el presente trabajo tiene como objetivo describir los primeros casos que evidencian la presencia de coccideos intestinales morfológicamente semejantes a *Caryospora cheloniae* en individuos juveniles de tortuga verde provenientes de pesca artesanal en el Golfo de Venezuela (Caribe sur).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El Sistema de Maracaibo está localizado en la región noroccidental de Venezuela. Esta región presenta una extensión de 12 1823 km² y está compuesta por cuatro cuerpos de agua íntimamente conectados: Lago de Maracaibo, Estrecho de Maracaibo, Bahía el Tablazo y el Golfo de Venezuela. Este último se encuentra en la porción norte y exterior de dicho sistema (Fig. 1) (Febres y Masciangioli 2000).

El Golfo de Venezuela (Fig. 1) presenta una gran diversidad de hábitats que permiten el desarrollo y crecimiento de un número considerable de organismos (Febres y Masciangioli 2000). Además, presenta una zona de surgen-
cia que proporciona importantes cantidades de nutrientes los cuales son utilizados por diversos organismos (Rueda-Roa y Muller-Karger 2013).

Animales de estudio

Los ejemplares estudiados se capturaron en dos localidades específicas del Golfo de Venezuela, en el poblado pesquero de Kazuzain (11°37'57" Norte y 71°50'36" Oeste) y en el Bajo San Bernardo (11°00'01" Norte y 71°36'16" Oeste) (Fig. 1).

Para facilitar la identificación de cada individuo y de sus muestras subsecuentes se utilizó la siguiente codificación: Los tres individuos juveniles de tortuga verde (*Chelonia mydas*) procedentes de la localidad de Kazuzain fueron

rotulados como K001, K002, K003, y SBo01 el ejemplar proveniente de la localidad de Bajo San Bernardo (Tabla 1). Todos los ejemplares fueron capturados por pesca artesanal y posteriormente rescatados mediante el programa Red de Aviso Oportuno – Zulia (RAO-Zulia), a cargo de la ONG “Grupo de Trabajo en Tortugas Marinas del Golfo de Venezuela (GTTM-GV)” (Barrios-Garrido y Montiel-Villalobos 2016).

Los individuos se midieron y pesaron utilizando el método propuesto por Bolten (1999). Empleando ambos datos, se estimó el Índice de Condición Corporal (ICC) utilizado por Limpus (2009) con la fórmula $ICC = \frac{P}{LRC^3}$; donde P es el peso en kilogramos, y LRC es el largo recto de caparazón (milímetros). Este índice permite categorizar a los ejemplares en función del valor obtenido, las categorías aplicadas son: Muy Bien - MB para $ICC \geq 1,20$; Bien - BI para ICC entre 1,19 y 1,10, Promedio - PR para ICC entre 1,09 y 1; y la condición Pobre - PO para $ICC \leq 1$. Para el cálculo del ICC, inicialmente se transformó el valor de Largo Curvo de Caparazón (LCC) en Largo Recto de Caparazón (LRC) aplicando la fórmula propuesta por Lagueux (1998), donde $LRC = (-1,358) + 1,002 \times (LCC)$.

Todas las evaluaciones clínicas, incluyendo examen físico, actividad natatoria, comportamiento dentro y fuera del agua, e ingesta de comida, fueron realizadas en la ciudad de Maracaibo siguiendo el protocolo de evaluación clínica completa propuesto por Casal *et al.* (2009). Las tortugas se mantuvieron en tanques de plástico redondos con capacidad de 300 Litros. Debido a la poca disponibilidad para acceder a grandes cantidades de sal industrial o artesanal, los ejemplares se mantuvieron en agua dulce por períodos no mayores a los 15 días.

Se suministraron soluciones cristaloides isotónicas por vía intracelómica a dosis de mantenimiento 10 ml/kg cada 24 horas durante cinco días a los ejemplares que presentaron signos de deshidratación (Mader 2005), de igual manera durante este período se realizaron diferentes pruebas diagnósticas.

Recolección y procesamiento de muestras

Se extrajo sangre a los ejemplares K001, K002 y K003 y se les realizó hematología completa (Owen y Ruiz 1980, NMFSFSC 2008) en el laboratorio de la Policlínica Veterinaria de La Universidad del Zulia. Sólo a K002 se le realizó un frotis de capa blanca con la finalidad de evaluar

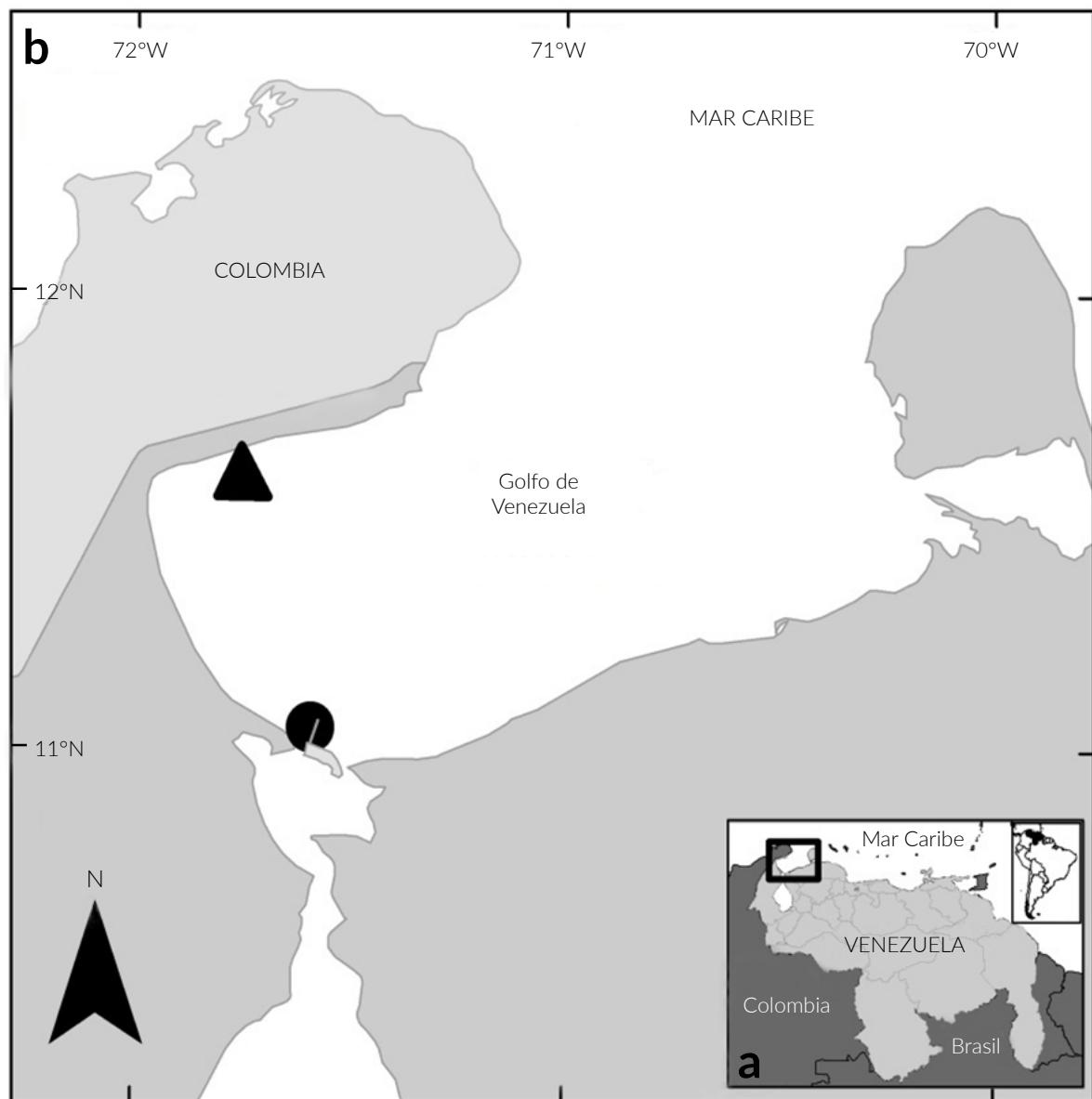


Figura 1. Área de estudio. **a.** Mapa referencial del país donde se realizó el estudio; **b.** Ubicación relativa de los poblados donde fueron capturados los individuos estudiados mediante artes de pesca artesanales. (▲) Kazuzain, Municipio Guajira, (●) Bajo San Bernardo, Municipio Insular Padilla, Estado Zulia (ST.ORG [c2002](#)).

la presencia de zoitos en leucocitos (Rose [c2005](#)). El cuarto animal (SBo01) murió antes tomar muestra de sangre.

Se recolectaron heces de los ejemplares K002, K003 y SBo01 del tanque para estudio. Se realizaron exámenes directo y de flotación (Dryden *et al.* [2005](#), Innis *et al.* [2010](#)), las heces de SBo01 se usaron con el fin de obtener la esporulación del parásito, empleando la metodología descrita por Gordon *et al.* ([1993](#)). En una placa de Petri se sembró un estimado de 2-3 gramos de heces refrigeradas con 20 mL de la solución salina preparada. En otra placa con 20

mL de la solución se sembraron heces tomadas del intestino post necropsia. Las fotografías microscópicas se realizaron con un microscopio Olympus CX41. La medición de los parásitos se utilizó una escala micrométrica, y el software ImageJ (Collins [2007](#)).

Finalmente, los ejemplares K002 y K003 fueron liberados, posteriores a su mejoría clínica y por no contar con instalaciones adecuadas para su manejo en cautividad. Mientras que K001 y SBo01 murieron durante la primera semana de cautividad.

Tabla 1. Datos obtenidos de los ejemplares estudiados. Código, Localidad y fecha de captura. Valores morfométricos, peso, y estudios patológicos realizados en los individuos de tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturados en el Golfo de Venezuela.

Código	Localidad	Fecha		L.C.C. (mm)	A.C.C. (mm)	Peso (Kg)	ICC (Kgs/LRC ³)	Procedimientos diagnósticos		
		Captura	Deceso					Hm	Hst	Cp
K 001	Kazuzain	29/Sep/2011	06/Oct/2011	291	258	1,8	0,84	SI	SI	NO
K 002	Kazuzain	05/Ago/2012	--	298	247	2,7	1,18	SI	NO	SI
K 003	Kazuzain	14/Abr/2012	--	244	208	1,4	1,11	SI	NO	SI
SB 001	San Bernardo	20/Sep/2013	25/Sep/2013	265	247	2,0	1,24	NO	SI	SI

L.C.C = Largo curvo del caparazón, A.C.C= Ancho curvo del caparazón, ICC = Índice de condición corporal, Hm = hematología, Hst = Histopatología, Cp = coprología. Los individuos K002 y K003 fueron liberados luego de 10-15 días en cautiverio.

Estudios anatómico-patológicos

De los ejemplares K001 y SB001 se realizaron estudios anatómico-patológicos *post-mortem* correspondientes siguiendo la metodología propuesta por Wyneken (2001) y Phelan y Eckert (2006). Se recolectaron muestras de tejido estomacal, intestino delgado y grueso, músculo, bazo, encéfalo, riñón, esófago, páncreas, pulmón y corazón (aprox. 2 cm³), seguidamente fueron fijados en formalina al 10 %, para luego trasladarlas al laboratorio para análisis histopatológico. La variabilidad en la toma de muestras y exámenes realizados a cada animal se debió a la falta de insumos necesarios al momento de la recolección y procesamiento de muestras o tejidos.

RESULTADOS

Todos los ejemplares juveniles de tortuga verde *Chelonia mydas* presentaron hallazgos coprológicos, hematológicos o histopatológicos que evidencian la presencia de organismos compatibles con *Caryosporasp.* (Apicomplexa: Eimeriorina) (Tabla 1). Constituyendo estos los primeros reportes de coccidiosis en tortugas marinas en Venezuela, y la zona sur del Mar Caribe.

Hallazgos clínicos

Dos de los individuos (K001 y K002) presentaron signos nerviosos marcados, como cabeza ladeada, movimientos involuntarios de aletas y cabeza, movimientos natatorios circulares, además de hiperestesia, temblores, fasciculaciones y depresión. Uno de estos ejemplares también presentó problemas de flotabilidad y postura anormal de descanso. El ejemplar SB001 solo presentó depresión, deshidratación leve y luego muerte súbita. K003 no presentó ningún tipo de sintomatología, solo algunas escoriaciones

en las aletas, la observación de ooquistes en este animal fue un hallazgo incidental, durante los exámenes de rutina, previos a su liberación. En general, tres de los cuatro animales estudiados presentaron buena o muy buena condición corporal, basándose en los valores de Índice de Condición Corporal (ICC). Solo K001 presentó un valor de ICC categorizado como Pobre (ICC_{K001}= 0,84) (Tabla 1).

Hallazgos del estudio coprológico

Los individuos K002, K003 y SB001 mostraron formas parasitarias morfológicamente semejantes a ooquistes no esporulados de *Caryospora cheloniae* en moderada cantidad, tanto en el examen directo como en el de flotación (Fig. 2a). Dichos ooquistes presentaron forma elipsoidal alargada, en algunos casos curva, paredes suaves y el espacio interior ocupado por un material granulado de color verdoso. El tamaño promedio de los ooquistes fue de 35,50 micrómetros de largo, SD = 6,43 (mínimo = 26,45 micrómetros; máximo = 49,80 micrómetros) y 15,53 micrómetros de ancho, SD = 1,48 (mínimo = 12,47; máximo = 17,81).

Hallazgos hematológicos

De manera general, la morfología y valores de los eritrocitos y leucocitos observados en la tortuga K001 se encontraron entre los intervalos de referencia (Tabla 2). K002 presentó linfocitos reactivos escasos, eosinofilia e hipoproteinemia. Además, en este individuo se encontraron con relativa frecuencia estructuras similares a zoitos de *Caryospora sp.* en linfocitos y monocitos circulantes en frotis de capa blanca (Fig. 2b). El ejemplar K003 a pesar de ser un animal asintomático, presentó anemia, leucopenia e hipoproteinemia hallazgos que podrían presentarse en casos de anorexia prolongada, enfermedades infecto-contagiosas, intoxicación, inmunosupresión, entre otros.

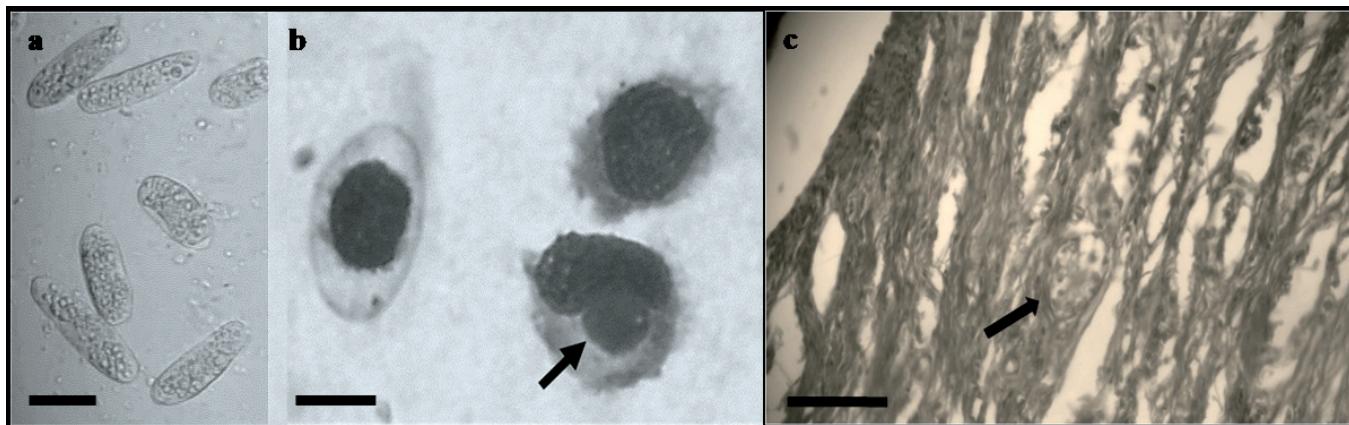


Figura 2. Vistas histológicas de coccidios encontrados en ejemplares de juveniles de *Chelonia mydas* en el Golfo de Venezuela. **a.** Ooquistes no esporulados en muestras de heces; **b.** Zoitos (flechas) en monocitos y linfocitos, muestras de sangre del ejemplar K002. Tinción "Dip Quick Stain"; **c.** tejido intestinal del individuo K001. Las flechas indican la presencia de diferentes estadios de estructuras semejantes a *Caryospora* sp. Escalas en a = 40 μ , en b y c = 60 μ . Fotos: M. C. Alvarado.

Hallazgos histopatológicos

A nivel macroscópico el hallazgo más resaltante fue el engrosamiento y congestión de las paredes del intestino en K001 (Fig. 3). En este ejemplar a nivel microscópico se presentaron indicios de miocardiopatía degenerativa multifocal severa, hepatopatía hemorrágica tóxica y enteritis necrótica moderada en intestino anterior y posterior, caracterizada por la presencia de vellosidades atrofiadas o fusionadas, erosión del epitelio, necrosis e infiltración linfocitaria. El cerebro no pudo ser evaluado en este ejemplar.

En el individuo SB001 todos los órganos evaluados se encontraron normales, incluyendo cerebro, solo el intestino presentó una enteritis linfocítica multifocal leve. En ambos ejemplares a nivel intestinal, se observaron numerosos cuerpos cilíndricos, elipsoidales u ovoides y en ocasiones

redondeados, de pared delgada, bien definida y un cuerpo central nucleado rodeado por un halo o corona ópticamente vacía, no coloreada. Estos cuerpos se observaron libres en el lumen intestinal o invadiendo la región inferior del corion de la mucosa y la región superficial de la muscular propia. La morfología de estos cuerpos fue compatible con estadios parasitarios de agentes coccidiales, semejantes a *Caryospora cheloniae* (Fig. 2c).

DISCUSIÓN

Se registran por vez primera en el Golfo de Venezuela casos clínicos asociados a la presencia de coccidiosis intestinal en juveniles de tortuga verde. Las descripciones morfológicas, sintomáticas y clínicas presentadas por los

Tabla 2. Valores hematológicos de los ejemplares de tortuga verde (*Chelonia mydas*) con ooquistes coccidiales en el Golfo de Venezuela.

Parámetros hematológicos	K001	K002	K003	Valores de referencia
Hematocrito (%)	36	36	18	21 - 38
CGR(mm^3)	520 000	570 000	400 000	240 000 - 570 000
CGB (mm^3)	4620	3080	660	2600 - 12 100
Heterofilos (%)	64	79	62	69 - 95
Eosinofilos (%)	--	15	--	--
Monocitos (%)	7	1	2	0 - 5
Linfocitos (%)	29	5	36	5 - 30
PT (gr/dL)	4,8	2,4	2,0	3,16 - 6,01

CGR = Conteo de glóbulos rojos (mm^3), CGB = Conteo de glóbulos blancos (mm^3), PT = Proteínas totales (gramos/decilitros - gr/dL). Valores hematológicos normales referenciales de la especie *Cheloniemydas* tomados de Montilla et al. (2006)

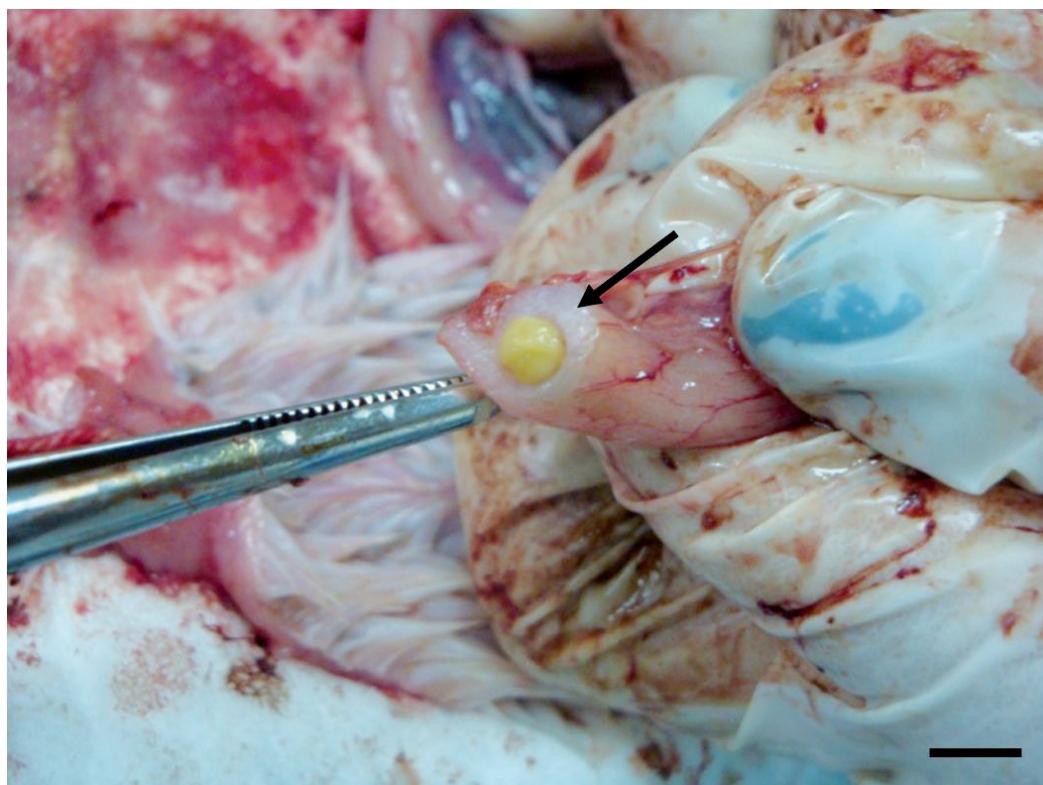


Figura 3. Secciones de intestino delgado del ejemplar K001. Flecha indica engrosamiento de las paredes intestinales. Escala = 1 cm. Foto: B. Conde.

cuatro animales estudiados coinciden con las características reportadas para *Caryospora cheloniae* por Rebell *et al.* (1974), Leibovitz *et al.* (1978), Gordon *et al.* (1993), Gordon (2005), Rose (c2005), Gordon y Johnson (c2010), Pelton *et al.* (2013), Grillo *et al.* (2014) y Manire y Montgomery (2014). Desde la publicación del primer reporte de este organismo en 1974, el diagnóstico de *Caryospora cheloniae* se ha basado principalmente en la observación de ooquistas en heces, detección de estadios coccidiales en tejidos, y en las características morfológicas distintivas de los ooquistas esporulados en forma de estrella de ocho puntas (Gordon *et al.* 1993, Gordon y Johnson c2010).

Recientemente se han comenzado a realizar trabajos a nivel molecular con el objetivo de lograr una identificación precisa del agente (Pelton *et al.* 2013, Chapman *et al.* 2016). Según estudios de secuenciación y análisis filogenéticos realizados en Queensland (Australia), hasta el presente se han hallado dos genotipos en las tortugas afectadas por coccidiosis intestinal, lo que sugiere la presencia de dos especies, una cercana a la familia Lankesterellidae y otra a la Eimeriidae (Chapman *et al.* 2016). En Estados Unidos, Pelton *et al.* (2013) mediante secuenciamiento de ADN usando reacción PCR estudiaron que el agente coccidial afectando a las tortugas pertenecía a la familia Eimeriidae. Estos dos estudios son los únicos que refieren el uso de técnicas moleculares

para el diagnóstico de *Caryospora* y son definidos por sus propios autores como trabajos exploratorios.

En este reporte la identificación del parásito se realizó con base en las características morfológicas de los ooquistas no esporulados debido a que no fue posible lograr el proceso de esporulación por un inadecuado manejo de las muestras. El uso de técnicas coprológicas como único método diagnóstico puede conllevar a errores de identificación, especialmente cuando se requiere diferenciar ooquistas de especies similares (Chapman *et al.* 2016), por lo que es prioritario para futuros trabajos utilizar técnicas moleculares para la correcta identificación del organismo.

En el presente estudio los casos de coccidiosis se presentaron en diferentes años y épocas. Esto último es similar a lo registrado por Greiner (2013), Pelton *et al.* (2013) y Manire y Montgomery (2014) para Florida; mientras en Australia, la enfermedad se presenta en forma de epizootias, de manera cíclica, y está generalmente relacionada con los meses posteriores al invierno austral (Tabla 3), entre los meses de agosto-noviembre (Flint *et al.* 2009).

Los individuos donde se evidenció la presencia de ooquistas morfológicamente compatibles con *Caryospora cheloniae* fueron juveniles (LCC: media = 27,45 cm, DE = 2,479; intervalo = 24,4-29,1) lo que coincide con el

Tabla 3. Origen, ubicación geográfica, grupo etario y forma de presentación de la enfermedad en ejemplares de tortuga verde (*Chelonia mydas*) con estructuras coccidiales en el Golfo de Venezuela y anteriores investigaciones realizadas en América y Australia.

Datos epidemiológicos		Atlántico / Caribe			Australia		
		Rebell et al. (1974)	Pelton et al. (2013)	Manire y Montgomery (2014)	Presente investigación	Gordon et al. (1993)	Grillo et al. (2014)
Origen	Cautiverio	X					
	Silvestre		X	X	X	X	X
Ubicación		Islas Caimán	Florida (USA)	Florida (USA)	Venezuela	Australia	Australia
Grupo etáreo	Crías	X		X			
	Juveniles		X	X	X		
	Sub-adultos					X	X
	Adultos					X	X
Forma de presentación	Esporádica		X	X	X		
	Brote	X				X	X

comportamiento de la enfermedad en el Océano Atlántico (Rebell et al. 1974, Pelton et al. 2013, Manire y Montgomery 2014). Por otro lado, en Australia, *Caryospora* se ha observado por lo general en tortugas con medidas de LCC que superan los 70,0 cm lo que corresponde a ejemplares sub-adultos y adultos (Gordon et al. 1993, Flint et al. 2009, Grillo et al. 2014, Chapman et al. 2016) (Tabla 3).

Hasta la fecha solo se habían determinado como causas de muerte o enfermedad en las especies de tortugas presentes en la zona de estudio, patologías como fibropapilomatosis, obstrucciones gastrointestinales y traumatismos (Montiel-Villalobos et al. 2008, Espinoza-Rodríguez y Barrios-Garrido 2012). La observación de lesiones en intestino y organismos semejantes a coccidias en el estudio histopatológico de una tortuga juvenil (K001) condujo a la primera sospecha de la presencia de *Caryosporacheloniae* en el área (Duszynki y Morrow 2014). A partir de allí se comenzaron a realizar estudios clínicos y de laboratorio en otros especímenes con sintomatología similar que llevaron posteriormente a la realización de la presente investigación.

Así mismo, se observaron diferentes manifestaciones clínicas en las tortugas con el parásito, dentro de las más importantes estuvieron las afectaciones sistémicas de carácter nervioso, leves afectaciones del tracto gastrointestinal, y buena condición corporal al momento del diagnóstico. Este cuadro clínico coincide con lo reportado durante las epizootias ocurridas en Australia (Gordon et al. 1993,

Gordon 2005, Rose 2005, Gordon y Johnson 2010, Grillo et al. 2014, Chapman et al. 2016), y se diferencia del brote reportado por Rebell et al. (1974), en el cual la letargia, emaciación y afectación intestinal fueron las manifestaciones clínicas típicas, en ausencia de signos nerviosos. Uno de los animales de estudio mostró problemas de flotabilidad, este hallazgo concuerda con lo encontrado por Pelton et al. (2013), en dos juveniles de tortuga verde afectadas por *Caryospora cheloniae* en Carolina del Sur, en EE. UU.

En dos de las tortugas estudiadas (SBo01 y K003) la observación de ooquistes en las heces fue un hallazgo incidental durante los exámenes de rutina realizados a todos los animales rescatados por la Organización No Gubernamental GTTM-GV, estos ejemplares no presentaron signos asociados a *Caryospora*. Aunque SBo01 murió pocos días después de ser rescatada, las causas de su muerte no pudieron ser atribuidas a la presencia del parásito, estos hallazgos sugieren que las tortugas presentaban la enfermedad de forma subclínica. Otros autores coinciden en la observación de ooquistes en animales asintomáticos como Gordon (2005) en Australia y Greiner (2013) en Florida; este último en un estudio coprológico realizado en animales muertos por otras causas registró que el 22 % de ellos tenían ooquistes de *Caryospora* en el tracto gastrointestinal, sin lesiones en intestino u otros órganos, sugiriendo un estado subclínico de la enfermedad (Gordon 2005).

Con respecto a la evaluación hematológica, la mayoría de los valores encontrados estuvieron dentro del intervalo fisiológico considerado normal para la especie (Bolten y Bjorndal 1992, Aguirre et al. 1995, Montilla Fuenmayor et al. 2006); sólo uno de los animales (SB001) presentó anemia e hipoproteinemia, hallazgos que podrían ser asociados a carencias nutricionales, debilidad o enfermedades crónicas (Stahl 2006); mencionado animal murió pocos días después por causas indeterminadas.

De las dos tortugas clínicamente enfermas, sólo K002 pudo ser evaluada hematológicamente. Este ejemplar (K002) presentó hipoproteinemia y ligera eosinofilia, estos hallazgos se asocian a parasitos; sin embargo, el hallazgo más relevante fue la observación de zoitos de *Caryospora cheloniae*. La presentación de zoitos en leucocitos circulantes solo ha sido evidenciada anteriormente por Rose (c2005) como un signo de coccidiosis sistémica y fue usado como un indicador de pronóstico desfavorable en las tortugas afectadas, esto debido a que frecuentemente los animales con signos neurológicos y zoitos circulantes presentaron en la necropsia lesiones inflamatorias severas en el sistema nervioso central (Rose obs. pers.).

Aunque no hay evidencia histológica que confirme que las alteraciones neurológicas en ambos ejemplares se deben a *Caryospora*, los hallazgos coprológicos y hematológicos, el cuadro clínico característico y la ausencia de cualquier otra causa conocida que pudiera conllevar a esta manifestación clínica, sugieren que ocurren a consecuencia de la infección por *Caryospora*.

En este estudio las lesiones presentes en el tejido asociadas a la presencia de organismos coccidiales, semejantes a *Caryospora cheloniae*, estuvieron circunscritas al intestino. Casos similares fueron evidenciados por Rebell et al. (1974) durante la epidemia que tuvo lugar en las Islas Caimán. En los dos ejemplares a los que se les realizó histopatología (K001 y SB001) se observaron cuerpos elipsoidales en varias secciones de intestino que sugieren a presencia de macrogametos y trofozoitos inmaduros de estadios coccidiales, compatibles con *Caryospora*, y acompañados a su vez de atrofia de vellosidades, enteritis necrótica e infiltración linfocitaria multifocal.

En ningún otro órgano se evidenció al parásito, aunque es necesario recalcar que el cerebro de los animales que presentaron sintomatología nerviosa no pudo ser evaluado. Estos resultados difieren de lo reportado en las epizootias ocurridas en Australia, donde varios autores señalan la presencia *Caryospora* asociada o no a inflamación granulomatosa en órganos tales como, intestino, cerebro, tiroides, riñón, glándula adrenal, vejiga, estómago y pulmón (Gordon et al. 1993, Gordon 2005, Rose c2005, Flint et al. 2009, Gordon y Johnson c2010, Grillo et al. 2014, Chapman et al. 2016).

Este trabajo brinda nuevos aportes para conocer la enfermedad, se registra una nueva localidad, así como un nuevo grupo etario, individuos juveniles, afectado por coccidios intestinales de forma sistémica, con cuadros clínicos semejantes a los estudiados anteriormente en otras localidades. Además, se evidencia por segunda vez zoitos en leucocitos circulantes.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

BC y MCA toma y análisis de datos, escritura del documento, determinaciones anatómicas e histopatológicas; NER y HBG toma y análisis de datos, concepción y diseño, escritura y edición del documento.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses que hayan afectado el contenido, resultados o conclusiones del artículo.

AGRADECIMIENTOS

A las comunidades Wayuú y Añú de las zonas de estudio, así como a los voluntarios del “Grupo de Trabajo en Tortugas Marinas del Golfo de Venezuela (GTTM-GV)” quienes colaboraron en la obtención de las muestras. Igualmente, a los colaboradores y asistentes de campo del

Laboratorio de Ecología General de la Facultad Experimental de Ciencias, a la Asociación Estudiantil de Veterinaria por la Fauna Silvestre (AsoEVFaS), al Laboratorio de Anatomía Patológica de la Policlínica Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia. Además, al personal del Laboratorio de Diagnóstico Patológico del Dr. Soto Bracho por la disposición en tiempo, recursos y espacio para la realización de las pruebas histopatológicas. Esta investigación fue llevada a cabo bajo el permiso número 1224, del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (hoy Ministerio de Ecosocialismo y Agua). Los animales presentados en este estudio fueron tratados bajo las normativas, reglamentos y código ético del Médico Veterinario de Venezuela, presentando honestidad, legitimidad y responsabilidad, en beneficio de los animales, profesión y de la sociedad.

LITERATURA CITADA

- Aguirre AA, Balazs GH, Speaker TR, Gross TS. 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilomas. *Physiol. Zool.* 68(5):831–854.
- Aguirre AA, Otsfeld R, Tabor G, Pearl M. 2002. Conservation Medicine: Ecological Health in Practice. First Edition. New York: Oxford University Press.
- Aguirre AA, Gardner SC, Marsh JC, Delgado SG, Limpus CJ, Nichols WJ. 2006. Hazards Associated with the Consumption of Sea Turtle Meat and Eggs: A Review for HealthCare Workers and the General Public. *EcoHealth* 3(3):141–153. doi: <https://dx.doi.org/10.1007/s10393-006-0032-x>.
- Barrios-Garrido HA, Montiel-Villalobos MG. 2016. Strandings of Leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) along the western and southern coast of the Gulf of Venezuela. *Herp. Con. Bio.* 11(1):244–252.
- Bolten A, Bjorndal K. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *J. Wild. Dis.* 28(3):407–413. doi: <https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.407>.
- Bolten AB. 1999. Techniques for measuring sea turtles. En: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M, editores. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. Washington: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group. p. 1–5.
- Casal AB, Camacho M, López-Jurado LF, Juste C, Orós J. 2009. Comparative study of hematologic and plasma biochemical variables in Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Vet. Clin. Pathol.* 38(2):213–218. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00106.x>.
- Chapman PA, Owen H, Flint M, Traub RJ, Cribb TH, Mills PC. 2016. Molecular Characterization of Coccidia Associated with an Epizootic in Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) in South East Queensland, Australia. *PLoS ONE* 11(2): e0149962. doi: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0149962>.
- Collins TJ. 2007. ImageJ for microscopy. *BioTechniques* 43(1 Suppl):25–30. doi: <https://dx.doi.org/10.2144/000112517>.
- Dryden MW, Payne PA, Ridley R, Smith V. 2005. Comparison of Common Fecal Flotation Techniques for the Recovery of Parasite Eggs and Oocysts. *Vet. Ther.* 6(1):15–28.
- Duszynski DW, Morrow JJ. 2014. The biology and identification of the coccidian (Apicomplexa) of turtles of the world. Primera edición. London: AcademicPress.
- Espinoza-Rodríguez N, Barrios-Garrido H. 2012. Fibropapillomatosis in juvenile green turtle (*Chelonia mydas*) captured in the Gulf of Venezuela: Frequency associated with environmental conditions? En: Jones TT, Wallace BP, compiladores. Proceedings of the thirty-first annual symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NOAA NMFS-SEFSC-631. Miami: NOAA Fisheries Service-Southeast Fisheries Science Center. p. 203.
- Febres G, Masciangioli P. 2000. Hidrografía del Sistema de Maracaibo. En: Rodríguez G, editor. El Sistema de Maracaibo. Caracas, Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). p. 33–59.
- Flint M, Patterson-Kane JC, Limpus C, Work TM, Blair D, Mills PC. 2009. Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21(6):733–759. doi: <https://dx.doi.org/10.1177/104063870902100601>.
- Gordon AN, Kelly WR, Lester RJG. 1993. Epizootic mortality of free-living green turtles *Chelonia mydas* due Coccidiosis. *J. Wild. Dis.* 29(3):490–494. doi: [10.7589/0090-3558-29.3.490](https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-29.3.490).
- Gordon A. 2005. A Necropsy-based study of green turtles (*Chelonia mydas*) in South-East Queensland. [Tesis]. [Queensland]: University of Queensland.
- Gordon A, Johnson R. c2010. Disseminated coccidiosis (*Caryospora cheloniae*) in green turtles. WHA. Fact Sheet. [Revisado en: 17 Julio 2016]. <https://wildlifehealthaustralia.com.au>.
- Greiner EC. 2013. Parasites of marine turtles. En: Wyneken J, Lohmann K, Musick J, editores. The biology of sea turtles. Volume III. U.S.A: CRC Press. p. 427–446.
- Grillo T, Cox-Wilton K, Gilchrist S, Iglesias R. 2014. Green turtle mass mortality -coccidiosis. *Animal Health Surveillance Quarterly. Wildl. Heal. Aus.* 19(4):6–7.
- Guada H, Sole G. 2000. Plan de acción para la recuperación de las tortugas marinas de Venezuela. Informe técnico. Venezuela: WIDECAST.
- Innis C, Merigo C, Dodge K, Thulst M, Dodge M, Sharp B, Perkins C. 2010. Health evaluation of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) in the Northwestern Atlantic during direct capture and fisheries gear disentanglement. *Chelonian Cons. Biol.* 9(2):205–222. doi: <https://dx.doi.org/10.2744/CCB-0838.1>.
- [IUCN] International Union for Conservation of Nature. c2015. The IUCN Red List of Threatened Species. [Revisado en: 29 Jul 2016]. <http://www.iucnredlist.org/>
- Jacobson ER, Bruce L, Homer BA, Stacy EC, Greiner NJ, Szabo CL, Chrisman FO, Coberley S, Foley AM, Landsberg JH, Flewelling L. 2006. Neurological disease in wild loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. *Dis. Aqua. Organ.* 70(1–2):139–154. doi: <https://dx.doi.org/10.3354/da0070139>.
- Jones K, Ariel E, Buergess G, Read M. 2016. A review of fibropapillomatosis in Green turtles (*Chelonia mydas*). *Vet. Jour.* 212:48–57. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.041>.
- Lagueux C. 1998. Marine turtle fishery of Caribbean Nicaragua: Human use patterns and harvest trends. [Tesis Doctoral] [Gainesville]: University of Florida.
- Leibovitz L, Rebell G, Boucher GC. 1978. *Caryospora cheloniae* sp. n.: A coccidial pathogen of mariculture-reared green sea turtles (*Chelonia mydas*). *J. Wildl. Dis.* 14(2):269–275. doi: <https://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-14.2.269>.
- Limpus CJ. 2009. A biological review of Australian marine turtles. 2. Green Turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus). Brisbane, QLD: Queensland Government. Environmental Protection Agency. p. 95.

- Mader D. 2005. Reptile medicine and surgery. Segunda edición. Florida: Saunders, W.B.
- Manire C, Montgomery N. 2014. Intestinal Coccidia resembling *Caryospora* spp. in green and loggerhead sea turtles: Occurrence and effective treatment. Australia: IAAAM.
- Montiel-Villalobos MG, Barrios-Garrido H, Rivero L. 2008. New report of fibropapillomatosis in subadults of Green Turtles in Gulf of Venezuela. En: Rees AF, Frick M, Panagopoulou A, Williams K, compiladores. Proceedings of the Twenty-Seventh Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-569. Miami: National Marine Fisheries Service. p. 24.
- Montilla Fuenmayor AJ, Hernández Rangel JL, Alvarado Árraga MC. 2006. Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la Alta Guajira. Rev. Cient. 16(3):219–226.
- [NMFSSEFSC] National Marine Fisheries Service Southeast Fisheries Science Center. 2008. Sea turtle research techniques manual. Florida: NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-579.
- Owen DW, Ruiz G. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. Herpetologica 36(1):17–20.
- Pelton C, Boylan S, Stacy N, McIntosh A, Walsh M, Ranly M, Wellehan J. 2013. The use of Triazinones for the treatment of Coccidia morphologically resembling *Caryospora cheloniae* in green sea turtles (*Chelonia mydas*). Florida: University of Florida, IAAAM.
- Phelan SM, Eckert KL. 2006. Marine Turtle Trauma Response Procedures: A Field Guide. Technical Report No. 4. Beaufort, North Carolina U.S.A: Wider Caribbean Sea Turtle Conservation Network (WIDECAST). p. 71.
- Rebell G, Rywlin A, Ulrich G. 1974. Coccidiosis in the green turtle (*Chelonia mydas*) in mariculture. J. World Aquacult. Soc. 5(1-4):197-204. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.1974.tb00190.x>
- Rodríguez JP, García-Rawlins A, Rojas-Suarez F. 2015. Libro Rojo de la Fauna Venezolana. Caracas, Venezuela: Provida, Fundación Empresas Polar.
- Rose K. c2005. Common Diseases of Urban Wildlife: REPTILES. Aus. Wildl. Heal. 1:5–6. [Revisado en: 25 Ago 2018]. <http://www.arwh.org/common-diseases/reptiles>
- Rueda-Roa D, Muller-Karger FE. 2013. The southern Caribbean upwelling system: Sea surface temperature, wind forcing and chlorophyll concentration patterns. Deep Sea. Res. I 78:102–114. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.dsr.2013.04.008>.
- Stahl SJ. 2006. Reptile Hematology and Serum Chemistry. En NAVC. Proceedings of the North American veterinary conference. Vol. 20. Florida: The North American Veterinary Community (NAVC). p. 1673.
- [ST.ORG] SEATURTLE. c2002. Maptool. [Revisado en: 14 Nov 2016]. <http://www.seaturtle.org/maptool/>
- Wallace BP, Bjorndal KA, Bourjea J, Bowen BW, Briseño Dueñas R, Casale P, Choudhury BC, Costa A, Dutton PH, Fallabrino A, Finkbeiner EM, DiMatteo AD, Girard A, Girondot M, Hamann M, Hurley BJ, López-Mendilaharsu M, Marcovaldi MA, Musick JA, Nel R, Pilcher NJ, Troëng S, Bolten AB, Witherington B, Mast RB, Chaloupka MY, Hutchinson BJ, Abreu-Grobois FA, Mortimer JA, Seminoff JA, Amorocho D, Mast RB. 2011. Global conservation priorities for marine turtles. PLoS One 6(9):e24510. doi: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024510>.
- Wynneken J. 2001. The anatomy of sea turtle. U.S.A: U.S. Department of Commerce. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC.